

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES  
CARRERA DE CIENCIAS QUÍMICAS



TESIS  
PARA OPTAR AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y  
CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICA DE MIELES DE  
DIFERENTES REGIONES DE BOLIVIA**

**POSTULANTE:** Lic. MARCO LADISLAO QUINO HUASCO  
**TUTOR:** M.Sc. JUAN ANTONIO ALVARADO K.

**TRIBUNALES:** Ph.D. ROMULO GEMIO S.  
Ph.D. SULEMA VALDEZ

LA PAZ – BOLIVIA  
2019

**DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y  
CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICA DE MIELES DE  
DIFERENTES REGIONES DE BOLIVIA**

## *Dedicatoria*

*Este trabajo lo dedico con todo amor, cariño y una eterna gratitud a mis padres Nicolás Q., Lucía H., y mi familia por ser mi luz, mi soporte principal en la vida y siempre estar a mi lado apoyándome incondicionalmente en momentos buenos y malos. A ellos les debo todo lo que soy; porque con sus consejos y cariño son una inspiración a continuar con este proyecto de vida.*

*Marco Quino*

### *Agradecimiento*

*Doy gracias a Dios por darme fortaleza y perseverancia por ser mi fuente de sabiduría y darme todo lo que tengo.*

*Agradezco en forma muy especial a mi tutor, maestro y amigo M. Sc. Juan Antonio Alvarado K., apoyar y aportar con sus conocimientos el desarrollo de esta tesis de maestría; por sus enseñanzas y por todo el tiempo invertido en este proyecto.*

*También agradezco a mis tribunales y todos los docentes de la carrera de Ciencias Químicas por formarme en este maravilloso mundo de la Química.*

## **RESUMEN**

En el presente trabajo se analiza 45 muestras de miel de abeja provenientes de seis eco-regiones de Bolivia: Bosque Seco Interandino, Bosque Boliviano-Tucumano, Chaco, Prepuna, Yungas y Bosque Amazónico Sub-andino; con el objetivo de determinar la capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y realizar la caracterización fisicoquímica y de frescura.

La determinación de la capacidad antioxidante, es analizada con los métodos de ABTS, ORAC y FRAP; para el contenido de fenoles totales se usa el método de Folin Ciocalteu. Para la caracterización fisicoquímica se realiza las determinaciones en los parámetros de pH, actividad de agua, conductividad eléctrica, color, cenizas, humedad y sólidos insolubles; finalmente, los parámetros de acidez, actividad de diastasa e hidroximetilfurfural (HMF) se realiza para la determinación de la frescura de la miel.

Se obtuvo una capacidad antioxidante acorde a los valores reportados por los países de la región; la mayoría de las mieles analizadas cumplen con las normativas correspondientes, a excepción de algunas localidades: dos en el parámetro de ceniza, cuatros en el parámetro de conductividad eléctrica, ocho para el parámetro de humedad, una en el parámetro de acidez y cuatro en los parámetros de actividad de diastasa e HMF.

# ÍNDICE

CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1. 1. Justificación .....	2
CAPITULO II .....	3
2. OBJETIVOS .....	3
2.1. Objetivo General.....	3
2.2. Objetivo Especifico.....	3
CAPITULO III .....	4
3. FUNDAMENTO TEÓRICO .....	4
3.1. Apicultura .....	4
3.2. Abeja Mellifera ( <i>Apis mellifera</i> ).....	6
3.2.1. Generalidades de la especie .....	6
3.2.2. Trabajo en la colmena .....	7
3.2.3. Alimentación .....	7
3.2.4. Constancia floral .....	8
3.2.5. Distancia de vuelo .....	8
3.3. Transformación de néctar a miel.....	9
3.4. Productos apícolas.....	9
3.4.1. Jalea real.....	9
3.4.2. Polen.....	9
3.4.3. Cera .....	10
3.4.4. Apitoxina .....	10
3.4.5. Propóleos.....	10
3.5. Miel .....	11
3.5.1. Origen biológico de la miel.....	11
3.5.2. Clasificación de la miel .....	13
3.6. Elaboración de la miel.....	14
3.6.1. Recolección .....	15
3.6.2. Aireación .....	15
3.6.3. Almacenamiento y ventilación: maduración .....	16

3.6.4.	Operculado .....	16
3.7.	Obtención de la miel .....	16
3.7.1.	Deshumidificación y desoperculado .....	17
3.7.2.	Centrifugación y filtrado .....	18
3.7.3.	Decantación y limpieza .....	18
3.8.	Composición química de la miel .....	19
3.8.1.	Carbohidratos .....	20
3.8.2.	Agua .....	21
3.8.3.	Proteínas, aminoácidos y enzimas .....	22
3.8.4.	Cenizas .....	24
3.8.5.	Otros constituyentes minoritarios .....	25
3.9.	Calidad de la miel .....	26
3.9.1.	Fermentación .....	26
3.9.2.	Cristalización .....	26
3.9.3.	Envejecimiento .....	26
3.10.	Propiedades funcionales de la miel .....	27
3.11.	Antioxidantes .....	27
3.11.1.	Sistemas de defensa antioxidantes .....	29
3.11.2.	Actividad antioxidante .....	29
3.11.3.	Actividad antioxidante en el ensayo FRAP .....	30
3.11.4.	Actividad antioxidante método ORAC .....	31
3.12.	Compuestos polifenólicos .....	34
3.13.	Eco-regiones de Bolivia .....	35
CAPITULO IV .....		40
4.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....	40
4.1.	Colecta de muestras .....	40
4.2.	Determinación de la capacidad antioxidante total (TAC) .....	43
4.2.1.	Método ABTS .....	43
4.2.2.	Método FRAP .....	43
4.2.3.	Método ORAC .....	44
4.2.4.	Determinación de del contenido de Fenoles Totales .....	44
4.3.	Determinación de parámetros fisicoquímicos .....	45

4.3.1.	Determinación de cenizas.....	45
4.3.2.	Determinación de acidez libre, acidez láctica y acidez total .....	45
4.3.3.	Determinación de humedad.....	46
4.3.4.	Determinación de pH .....	46
4.3.5.	Determinación de sólidos insolubles .....	47
4.3.6.	Determinación de conductividad eléctrica .....	47
4.3.7.	Determinación del color.....	47
4.3.8.	Determinación de actividad de agua .....	48
4.4.	Determinación de frescura de la miel.....	48
4.4.1.	Determinación de hidroximetilfurfural.....	48
4.4.2.	Determinación de actividad de diastasa .....	49
4.5.	Materiales y equipos .....	51
4.5.1.	Muestras de miel .....	51
4.5.2.	Reactivos .....	51
4.5.3.	Equipos e instrumentos .....	51
4.6.	Análisis y tratamiento estadístico.....	52
4.6.1.	Análisis de componentes principales .....	52
4.6.2.	Análisis de conglomerados (clústers).....	53
CAPITULO V .....		54
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
5.1.	Determinación de la capacidad antioxidante .....	54
5.1.2.	Método ABTS.....	54
5.1.3.	Método FRAP.....	55
5.1.4.	Método Fenoles Totales.....	57
5.1.5.	Método ORAC.....	59
5.2.	Determinación de parámetros fisicoquímicos .....	64
5.2.1.	Ceniza .....	64
5.2.2.	Sólidos Insolubles en agua .....	66
5.2.3.	Conductividad Eléctrica .....	67
5.2.4.	pH.....	68
5.2.5.	Actividad de agua (Aw).....	69
5.2.6.	Humedad.....	71

5.2.7. Color .....	73
5.2.8. Acidez.....	76
5.2.9. Análisis de correlación para los parámetros fisicoquímicos .....	78
5.3. Determinación de frescura de miel.....	83
5.3.1. Determinación de Actividad de Diastasa .....	83
5.3.2. Determinación de hidroximetilfurfural.....	85
5.3.3. Análisis de correlación para los parámetros de frescura de la miel .....	86
CAPÍTULO VI.....	93
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	93
CAPÍTULO VII.....	95
BIBLIOGRAFÍA.....	95

## Índice de Tablas

Tabla 1: Composición química de la miel .....	19
Tabla 2: Constituyentes de miel.....	19
Tabla 3: Principales azúcares de la miel .....	21
Tabla 4: Enzimas de la miel.....	24
Tabla 5: Minerales presentes en la miel .....	24
Tabla 6: Constituyentes de la miel.....	25
Tabla 7: Clasificación de los antioxidantes .....	28
Tabla 8: Información de los puntos de muestreo .....	41
Tabla 9: Método ABTS ( $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ ) en mieles de 6 regiones de Bolivia.....	54
Tabla 10: Método FRAP ( $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ ) en mieles de 6 regiones de Bolivia .....	56
Tabla 11: Método TPC (EAG/100g) en mieles de 6 regiones de Bolivia.....	58
Tabla 12: Método ORAC ( $\mu\text{mol ET}/\text{g}$ ) en mieles de 6 regiones de Bolivia .....	59
Tabla 13: Ceniza (%) de miel de 6 regiones de Bolivia.....	64
Tabla 14: Sólidos Insolubles en agua (%) de miel de 6 regiones de Bolivia .....	66
Tabla 15: Conductividad Eléctrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) de miel de 6 regiones de Bolivia.....	67
Tabla 16: pH de miel de 6 regiones de Bolivia .....	68
Tabla 17: Actividad de agua ( $A_w$ ) de miel de 6 regiones de Bolivia .....	70
Tabla 18: Humedad (%) de miel de 6 regiones de Bolivia.....	71
Tabla 19: Color ( $L^*$ ) de miel de 6 regiones de Bolivia .....	73
Tabla 20: Color ( $a^*$ ) de miel de 6 regiones de Bolivia .....	74
Tabla 21: Color ( $b^*$ ) de miel de 6 regiones de Bolivia .....	75
Tabla 22: Acidez (mEq/Kg) de miel de 6 regiones de Bolivia .....	76
Tabla 23: Actividad de diastasa ( $^{\circ}\text{G}$ ) de miel de 6 regiones de Bolivia .....	83
Tabla 24: Hidroximetilfurfural (mg/kg) de miel de 6 regiones de Bolivia.....	85
Tabla 25: correlación entre parámetros.....	90
Tabla 26: Correlación entre Factores y parámetros .....	91

## Índice de Gráficos

Gráfico 1: Curva de Calibración ABTS.....	54
Gráfico 2: Diagrama de caja y bigote método ABTS .....	55
Gráfico 3: Curva de Calibración FRAP .....	56
Gráfico 4: Diagrama de caja y bigote método FRAP .....	57
Gráfico 5: Curva de Calibración TPC .....	57
Gráfico 6: Diagrama de caja y bigote método FRAP .....	58
Gráfico 7: Curva de Calibración ORAC .....	59
Gráfico 8: Diagrama de caja y bigote método ORAC .....	60
Gráfico 9: Circulo de correlaciones para Antioxidantes .....	61
Gráfico 10: Biplot de las regiones de muestreo.....	62
Gráfico 11: Dendrograma de antioxidantes.....	63
Gráfico 12: Comparación de Ceniza por localidades respecto a los límites permisibles ..	65
Gráfico 13: Diagrama de caja y bigote para Cenizas .....	65
Gráfico 14: Diagrama de caja y bigote para.....	66
Gráfico 15: Diagrama de caja y bigote para Conductividad Eléctrica .....	68
Gráfico 16: Comparación de pH por localidades respecto a los límites permisibles .....	69
Gráfico 17: Diagrama de caja y bigote para pH .....	69
Gráfico 18: Diagrama de caja y bigote para.....	70
Gráfico 19: Diagrama de caja y bigote para Humedad .....	72
Gráfico 20: Comparación de Humedad (%) por localidades respecto a los límites permisibles.....	72
Gráfico 21: Diagrama de caja y bigote para L* .....	73
Gráfico 22: Diagrama de caja y bigote para a* .....	74
Gráfico 23: Diagrama de caja y bigote para b* .....	75
Gráfico 24: Diagrama de caja y bigote para Acidez.....	77
Gráfico 25: Comparación de Acidez Libre (mEq/kg) por localidades respecto a los límites permisibles.....	77
Gráfico 26: círculo de correlaciones .....	78
Gráfico 27: Biplot de las regiones de muestreo F1 y F2 .....	79
Gráfico 28: Biplot de las regiones de muestreo F1 y F3 .....	79
Gráfico 29: Dendrograma de parámetros fisicoquímicos .....	80
Gráfico 30: Diagrama de caja y bigote para Actividad de diastasa .....	84
Gráfico 31: Comparación de A.D. (°G) por localidades respecto a los límites permisibles	84
Gráfico 32: Diagrama de caja y bigote para Hidroximetilfurfural .....	85
Gráfico 33: Comparación de HMF (mg/kg) por localidades respecto a los límites permisibles.....	86
Gráfico 34: Circulo de correlaciones .....	86
Gráfico 35: biplot de las regiones de muestreo .....	87
Gráfico 36: Dendrograma de frescura.....	88
Gráfico 37: Circulo de correlaciones para todos los parámetros .....	90

Gráfico 38: Dendrograma de parámetros estudiados.....	91
---	----

## Índice de Imágenes

Imagen 1: <i>Apis mellifera</i> .....	6
Imagen 2: Clasificación en la colmena .....	7
Imagen 3: Rastro de feromonas.....	8
Imagen 4: Estructura de algunos oligosacáridos de la miel .....	20
Imagen 5: Algunos Azúcares de la miel .....	21
Imagen 6: Rueda de alimentos en función a su capacidad antioxidante .....	28
Imagen 7: Capacidad Antioxidante.....	30
Imagen 8: Cation tripiridiltiazina ferrosa $[Fe(H)(TPTZ)_2]^{2+}$ .....	31
Imagen 9: Mecanismo de degradación de la fluoresceína por AAPH .....	32
Imagen 10: Estructura química del trolox .....	33
Imagen 11: Pérdida de la fluorescencia en el tiempo.....	33
Imagen 12: Flavonoides .....	34
Imagen 13: Eco-regiones de Bolivia.....	35
Imagen 14: Puntos de muestreo de mieles de abeja .....	40

## Índice de anexos

Anexo A.....	101
Anexo B.....	102
Anexo C .....	107
Anexo D .....	115

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUCCIÓN

La miel es una sustancia natural dulce producida por la abeja a partir del néctar de las flores o de secreciones de partes de plantas o de excreciones de insectos chupadores presentes en las plantas, que las abejas recolectan, transforman, combinándolas con sustancias específicas propias, depositan, deshidratan, almacenan y dejan en colmenas para que madure. Para realizar este proceso edifican la vida en los bosques; como transportan el polen de flor en flor, las plantas se reproducen y el bosque se regenera de esta manera, el planeta cuenta con aire puro y con agua (Zandamela, 2008).

La llegada de la abeja africanizada cambió el rumbo del desarrollo que se dio hasta los últimos años de la década de los 70. Estas han sido determinantes para ampliar la apicultura a zonas donde antes no se podía mantener colmenas. El 99 por ciento de los apicultores cría abejas africanizadas porque son la población dominante. Según un estudio realizado por el doctor en entomología Dewey Carón, el material genético es casi 100 por ciento africano de la raza *Apis mellifera scutellata* (IBCE, 2010).

A diferencia de sus pares africanizadas, que cuentan con aguijón, éstas no pican al ser humano, sólo se enredan en el cabello. En Bolivia, las abejas nativas se pueden encontrar en todo el oriente del país, el Chaco, los Valles mesotérmicos y los Yungas. Hallándose alrededor de 30 especies de abejas melíferas sin aguijón.

La miel de las abejas, además de sus importantes características alimenticias, es ampliamente utilizada en medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades oculares (Conjuntivitis, Pterigios y Cataratas); además sirven para enfermedades respiratorias y digestivas (Rodríguez, 2012).

La miel posee propiedades medicinales que se deben principalmente a su composición química; entre estos los compuestos antioxidantes, azúcares, peróxido de hidrógeno, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos, le confieren las propiedades de inhibir el estrés oxidativo y la activación de sus bondades terapéuticas. La composición química de la miel depende en gran medida del origen floral y de las condiciones geográficas y climáticas, por lo tanto, las propiedades biológicas se ven fuertemente influenciadas por dichos factores (Lopez, 2014).

Ya que no existe suficiente información científica de las mieles bolivianas, se plantea el estudio de 45 muestras de miel en 6 diferentes regiones de nuestro país. De las

cuales se analiza la capacidad antioxidante, el contenido de fenoles totales, las propiedades fisicoquímicas y frescura de la miel.

## **1. 1. Justificación**

La falta de estudios científicos relacionados a las características fisicoquímicas y capacidad antioxidante de la miel en Bolivia, nos lleva a planificar una investigación plasmada en una tesis de maestría.

La miel de abeja al poseer cualidades terapéuticas, es ampliamente usada en medicina tradicional para afecciones como la conjuntivitis, Cataratas, enfermedades respiratorias y digestivas (Rodríguez, 2012). No es aprovechada en nuestro territorio.

La apicultura también es una alternativa socio-económica y/o ecológica para hacer auto sustentable la gestión silvo-forestal de parques nacionales y territorios indígenas en distintos pisos ecológicos y regiones de nuestro país.

Para esto, en la presente tesis se recogerán aspectos informativos de las condiciones climatológicas, altura sobre el nivel del mar, ubicación geográfica, incluyendo la cosecha y producción de la miel en 6 eco-regiones de Bolivia, todo esto unido al análisis de muestras y evaluación de resultados que nos llevarán a poder valorar la calidad de este alimento y fomentar su consumo.

## CAPITULO II

### 2. OBJETIVOS

#### 2.1. Objetivo General

Determinar la capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y los diferentes parámetros físicos y químicos que son útiles para la caracterización de la miel de abeja de seis diferentes eco-regiones de Bolivia.

#### 2.2. Objetivo Especifico

Analizar la Capacidad Antioxidante Total por los métodos: ABTS, ORAC y FRAP y el contenido de Fenoles Totales por el método de Folin Ciocalteau).

Analizar las diferentes características físico-químicas (pH, actividad del agua, conductividad eléctrica, acidez, humedad, sólidos insolubles, cenizas y color).

Analizar la actividad de diastasa e hidroximetilfurfural (HMF) para determinar la frescura de la miel.

Caracterizar las mieles colectadas correlacionándolas entre los parámetros de antioxidantes, parámetros fisicoquímicos y parámetros de frescura mediante un análisis de componentes principales.

Caracterizar las mieles por eco-regiones correlacionando los parámetros obtenidos a partir de cada eco-región.

Establecer si los parámetros estudiados de las mieles están de acuerdo a los requerimientos establecidos en las Normas Bolivianas y el *Codex Alimentario* para miel de Abeja.

## CAPITULO III

### 3. FUNDAMENTO TEÓRICO

#### 3.1. Apicultura

El cultivo de abejas es una actividad agropecuaria que se dedica a la crianza y aprovechamiento de sus productos (en general de las abejas del género *Apis*). También realiza los cuidados necesarios con el objetivo de obtener los productos de calidad, recolectarlos y satisfacer las necesidades que el hombre tiene de estos productos.

La cría de la abeja de especie *Apis mellifera* estaba distribuida en Europa, Asia y África; con origen en esta última, antes de que apareciera el Homo sapiens. La relación del hombre con las abejas se remonta aproximadamente hasta los tiempos mesolíticos. (Muñoz, 2007)

La cultura avanzó y los humanos aprendieron a acomodar las colmenas de las abejas dentro cavidades, en recipientes de cerámica, suelo, forraje o madera (como los arboles huecos). Los griegos, veneraron la apicultura y representaron en su moneda, con el cuño de una abeja en los años 480 a.C. En la actualidad los apicultores en la mayoría del mundo crían la abeja italiana con menor medida de Cárnicas y abejas Caucásicas. En América del sur las abejas fueron importadas de África al Brasil en 1956. La abeja africanizada es la única que se puede criar en el Sur y Centro América. (Hernández, 2013).

En el Nuevo Mundo no había abejas melíferas productoras de miel antes de la colisión entre el Viejo y el Nuevo Mundo por los españoles. Las primeras especies europeas fueron llevadas de España y rápidamente se extendieron por todo el Continente americano.

En América algunas tribus indígenas explotaban colonias de abejas *Trigonas* y *Melliponas*. A la colonización de América, los amerindios practicaban en Mesoamérica y Sudamérica la cría de especies autóctonas de abejas Melliponas, denominada meliponicultura (para distinguirla de la más frecuente apicultura, reservada para la cría de especies del género *Apis*). Las abejas sin aguijón producen mieles más livianas. La producción de miel de las *Melliponas* es baja si se compara con la de *Apis mellifera*. Hace poco se ha dado comienzo a una meliponicultura racional. Así, en el Nuevo Mundo la miel de las abejas *Melliponas* se ha colectado y consumido desde tiempos remotos, usándose en los rituales, en el consumo de la nobleza Pukina e incaica como edulcorante y en la medicina callawayá para prevenir, curar o recuperar de una o más enfermedades. Los

mochicas eran muy amantes de la miel de abejas de los campos de tomate, a este producto resultante de la flor del tomate se le daba una importancia medicinal muy apreciada. El rico balance de sus componentes era el amplio uso de la miel como complemento alimenticio de la nutrición de los Incas.

Según el cronista indio Huaman Poma de Ayala, el mes de septiembre, llamado también "Coya Raymi Quilla", o sea, Mes de la Mujer, era una de las festividades más importantes de los Incas, en ella se hacía la presentación de todas las mujeres que habían llegado a cumplir su "kikuchicuy" o primera menarquía. En esa fiesta se consumía todo tipo de flores acompañado de miel de abejas *Melliponas* o *Trigonas*, puesto que a esa delicia se le atribuía preservar la belleza y lozanía en las mujeres.

En sus Comentarios Garcilazo de la Vega menciona que los españoles todavía no habían introducido su crianza en el Perú. Sin embargo, alrededor del año 1600, los gustos potosinos ya habían creado un muy buen mercado para este producto. Al ampliarse el establecimiento de los españoles en el territorio de la Audiencia de Charcas introdujeron las abejas europeas y la apicultura. (Llaxacondor, 2006).

Durante el dominio español se instalaron colonias de abejas europeas en conventos, monasterios y demás instancias donde se congregaban sacerdotes europeos que traían junto al cristianismo, costumbres y rasgos culturales que se sincretizaron a la par del proceso de la evangelización.

Las boticas de los jesuitas usaban la miel de abejas como un ingrediente muy frecuente y socorrido ya en los primeros decenios del siglo XVII en las principales ciudades del virreinato del Perú, Chile y Charcas en las que contaban con Colegios. (Laval, 1953)

En decenios recientes, la abeja africana, *Mellifera adansonii* o dorsata o escutelata, ha llamado mucho la atención, especialmente por su introducción en el Brasil en 1956. Las abejas africanas producen doble cantidad de miel que las americanas de origen europeo. A su llegada al Brasil, hubo una extraordinaria multiplicación de las colonias africanas y los híbridos africanizados, fueron aún más vigorosos.

La invasión de la *A. dorsata* o *adansonii* tuvo efectos adversos en la población de muchas especies de abejas nativas. Las *Melliponas* disminuyeron en forma alarmante desde que llegó la africanizada, informándose que atacaba los nidos de éstas y otras especies. Se calculó que su avance era de 320 km por año.

Las abejas africanizadas se establecieron en Bolivia alrededor del año 1976, sin embargo, su llegada se estima a mediados de los 60. Han sido determinantes para ampliar la apicultura a zonas donde antes no se podía mantener colmenas.

### 3.2. Abeja Mellifera (*Apis mellifera*)

Es un insecto del orden *Hymenoptera*, familia *Apidae*, subfamilia *Apinae*. Las abejas melíferas africanas (AMA) son un híbrido entre diferentes subespecies de abejas melíferas europeas (AME) como: *Apis mellifera*. M. carnica o *A. ligústica* y la abeja melífera africana *A. scutellata*.

El 99 por ciento de los apicultores cría abejas africanizadas porque son la población dominante. Según un estudio realizado por el doctor en entomología Dewey Carón, el material genético es casi 100 por ciento africano de la raza *Apis mellifera* Scutellata. Esta especie es más prolifera y más tolerante a enfermedades, su diversidad genética le permitió adaptarse al cambio entre valles interandinos y zonas tropicales (Combarros, 2013).

#### 3.2.1. Generalidades de la especie

Estas abejas tienen el cuerpo recubierto con vellosidades color amarillo y líneas negras poseen cuatro alas y seis extremidades, todas unidas al segmento medio del cuerpo (tórax). El abdomen es más largo que el tórax y termina con un aguijón en las hembras, que los zánganos no presentan (Combarros, 2013). La cabeza es más pequeña que el tórax y el abdomen. Las obreras miden de 9,5 a 15,8 mm de largo, los zánganos 15.8 mm mientras que la reina mide 19,5 mm.

La cabeza, antenas y extremidades son negras, mientras que las alas son translúcidas. Las obreras poseen corbículas, que son estructuras recolectoras de polen, formadas por pelos curvados especializados que se encuentran en la tibia de las patas traseras.

Imagen 1: *Apis mellifera*

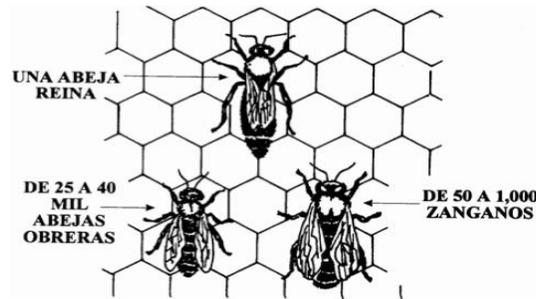


(Hernández, 2013)

### 3.2.2. Trabajo en la colmena

Las abejas melíferas son insectos sociales y viven en colonias perfectamente organizadas, donde cada individuo cumple con una función determinada. Una colonia consta de una reina, miles de obreras y algunas cientos de zánganos pueden vivir en una sola colonia.

Imagen 2: Clasificación en la colmena



(Hernández, 2013)

La función principal de la reina es la postura de huevos; la tarea de los zánganos es aparearse con la reina, los individuos que lo hacen mueren después de esto.

Las obreras poseen órganos que no tienen la reina ni los zánganos, estos les permiten realizar tareas relacionadas con la vida de la colonia, además están a cargo de realizar todos los trabajos dentro y fuera de la colmena, los cuales realizan de acuerdo a su tiempo de vida y desarrollo glandular. Entre estas actividades se encuentran: limpiar los panales, dar calor a los huevos y larvas, alimentar a las larvas, producir cera, construir panales, defender la colonia de la entrada de extraños, recolectar néctar, polen, agua y todo lo necesario para cubrir las necesidades de la colonia.

### 3.2.3. Alimentación

Las abejas melíferas (*Apis mellifera*) colectan para su alimentación néctar y polen. El néctar es convertido en miel y representa su fuente principal de carbohidratos, mientras que el polen representa la parte proteica de su dieta. Las larvas que se convertirán en abejas reina son alimentadas exclusivamente con jalea real.

Los insectos sociales forrajeros deben obtener una serie de nutrientes, siendo la proteína uno de los más importantes. Las abejas melíferas proveen uno de los pocos sistemas en los que se puede examinar el forrajeo de proteína independientemente de la toma de energía, ya que los individuos forrajean proteína (polen) y energía (néctar) de forma independiente (Vit, 2008).

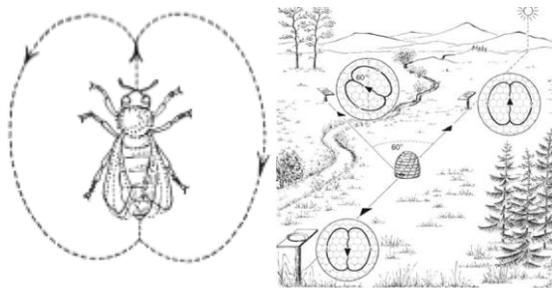
### 3.2.4. Constancia floral

La constancia floral quiere decir que una abeja normalmente visita un solo tipo de flor durante sus vuelos de forrajeo. La alta constancia floral es posible ya que las forrajeadoras rápidamente reconocen atributos de las flores como color, forma y olor, y usan esta información para forrajear con mayor eficiencia en ciertas flores. La constancia floral es muy importante para las plantas pues este proceso se puede asegurar la polinización.

La elección de flores no es aleatoria, esta reduce el tiempo de forrajeo, el riesgo y costo energético, llevando en general a la optimización del producto. Las abejas dirigen su búsqueda de fuentes de alimento de acuerdo no solo a la experiencia individual, sino también a la información transferida dentro de la colonia, siendo uno de los beneficios de su sociedad (Álvarez, 2008).

Para un eficiente forrajeo normalmente implica comunicación entre las abejas y que estas pueden reclutar a otras, cambiar de colectoras de néctar a colectoras de polen o agua, tomar decisiones para cambiar a una nueva fuente de recursos o para explotarlos de forma más eficiente, y así cumplir con los requerimientos cambiantes de la colonia. Esta comunicación se realiza a través de mecanismos como: rastros de feromonas o la danza del coleteo. Esta danza transmite información flexible, sobre la ubicación (dirección y distancia) dentro del rango de vuelo de la colonia (Vattuone, 2007).

Imagen 3: Rastro de feromonas



(Vattuone, 2007).

### 3.2.5. Distancia de vuelo

Las abejas forrajean en flores que se encuentran a menos de 2 a 3 km de distancia de la colmena; aunque hay registros de abejas que vuelan hasta 8 km y 14.4 km, pero las comunes son inferiores a los 5 kilómetros. Sin embargo, cuanto más cerca se encuentren las flores de las colonias de abejas, más rápido será el transporte de los recursos (néctar y polen) y gastarán una menor cantidad de energía teniendo un mayor rendimiento.

### **3.3. Transformación de néctar a miel**

Las obreras forrajeadoras recolectan el néctar de las flores y lo transportan dentro de su buche melífero hacia la colonia, donde lo transfieren a una o varias obreras, las cuales lo depositan en las celdas (Muños, 2014).

La transformación de néctar a miel, se produce debido a cambios químicos y físicos. Los cambios químicos se inician cuando el néctar se encuentra en el buche, ya que las abejas le adicionan enzimas como la invertasa que hidroliza la sacarosa presente en el néctar a glucosa y fructosa.

Los cambios físicos se deben a la evaporación, en la cual el néctar pierde hasta una tercera parte de su contenido de humedad durante el almacenamiento en la colmena, al madurar las abejas cierran la celda con una tapa de cera (opérculo) y finalmente, el néctar es convertido en miel (Narváez, 2013).

### **3.4. Productos apícolas**

La miel no es la única producción de las abejas, también producen la cera que es otro producto natural que se obtiene del trabajo directo de estos insectos; pero no son solo los únicos, existen productos como el propóleos (*própolis*), la jalea real y el veneno de abeja (apitoxina) (Ciappini, 2013).

#### **3.4.1. Jalea real**

La jalea real o “leche de abejas” es producido por la secreción de las glándulas mandibulares de las abejas con menos de seis días de vida. Forma parte de la dieta de las larvas de obreras y zánganos y constituye el único alimento de las reinas. Puede ser la causa de que la reina viva 5 años en lugar de 4 meses como las obreras. Ya que la jalea real se trata de un verdadero concentrado nutritivo, que contiene: agua (70 %) y el (30 %) está compuesta por materia seca, proteínas (50 %), lípidos (16 %), glúcidos (25 %), cenizas (2 %), otros (7 %) aproximadamente.

La parte proteica de la jalea real incluye, no solamente proteínas (globulina y albúmina) sino también aminoácidos libres en gran proporción.

#### **3.4.2. Polen**

Es un polvillo que la flor usa para su fecundación. Las abejas lo recogen de las plantas y flores y lo transportan en sus patas posteriores donde llevan unos cestillos o bolsas. La composición del polen es variable según las especies vegetales de las que proviene: agua (7 al 15 %), glúcidos (25 al 48 %), proteínas (11 al 28 %), lípidos (1 al 14 %), Sales minerales (1 al 5 %) y diversos (20 al 30 %) (Patrigani, 2016).

Hay dos tipos de polen, el que conservan las abejas en los panales que es enriquecido con secreciones, principios biológicos y conservantes que lo convierten en un producto de altísimo valor nutritivo y el polen en forma de granos que se obtiene con las trampas a la entrada de la colmena y no está modificado por las abejas, siendo un producto notable (Zandamela, 2008).

### **3.4.3. Cera**

Las ceras de abejas son ácidos grasos resultantes de la esterificación de diversos alcoholes, con una gran estabilidad química. Está compuesta por ésteres (72 %), ácidos (13,5 %), hidrocarburos (10,5 %), alcoholes libres (1 %), lactonas (0,6 %), pigmentos (0,4 %), e impurezas minerales (2 %). La abeja segrega la cera como una emulsión que se seca al tomar contacto con el exterior. Actualmente se utiliza para fabricar velas, ungüentos, barnices, betunes, pomadas (Zandamela, 2008).

### **3.4.4. Apitoxina**

Las abejas tienen almacenado veneno el cual es un líquido claro y aromático, que se vacía en el aguijón. Se elabora en las glándulas situadas en la parte posterior del último segmento abdominal. Compuesto por: histamina (0,1 al 1 %), melitina, que representa un (70 %) de las proteínas del veneno y es responsable de la mayor parte de las propiedades farmacológicas del veneno, fosfolipasa A, hialuronidasa, ácidos, sustancias olorosas y apamina que es un péptido básico con gran acción sobre el sistema nervioso central. El veneno se produce como una estrategia para su defensa y no pueden renovar su provisión una vez utilizado. (Zandamela, 2008).

Desde la antigüedad se ha usado el veneno de abejas en muy pequeñas cantidades ya que tiene efectos benéficos y curativos en un gran número de enfermedades, por ello hoy se sigue utilizando con fines terapéuticos. La apitoxina es un producto que se emplea en medicina por su efecto antiartrítico, en la preparación de antialérgicos y como anticoagulante (Hernández, 2013).

### **3.4.5. Propóleos**

El propóleos es una sustancia maleable en caliente (hacia los 35°C) y muy pegajosa, pero se vuelve muy dura a temperaturas más bajas. Son de procedencia vegetal directa, de plantas que secretan sustancias resinosas.

Se han encontrado 18 componentes de los propóleos, entre los principales se tiene flavonoides, flavonas, flavenoles, flavinas, un terpeno y aldehído aromático: la isovanillina (Vit, 2009).

### **3.5. Miel**

Según el *Codex Alimentario* se puede definir a la miel como “ una sustancia dulce natural producida por abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure” (CODEX, 1981).

También se define a la miel como un fluido natural dulce y viscoso que puede ser fluido, espeso o cristalizado. Es producido por las abejas a partir del néctar de las flores, de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores de plantas. Las abejas lo recogen, transforman y combinan con sustancias propias y lo almacenan, deshidratan y dejan en los panales o colmenas donde madura (Rodríguez, 2013; Zandamela, 2008).

#### **3.5.1. Origen biológico de la miel**

Las fuentes principales para formar miel son dos secreciones azucaradas: el néctar y el mielato (o mielada). Del néctar floral se obtiene la miel de flores, miel de origen floral o simplemente miel. A partir del mielato (llamado también mielada) se obtiene la miel de mielato. El origen de esta miel es indirecto; ciertos insectos de la familia *Aphididae* (orden *Homoptera*), se alimentan del floema de diversos árboles y arbustos y excretan un líquido dulce que es recolectado por las abejas y utilizado para fabricar la miel de mielato. Más raramente, las abejas recolectan jugos floemáticos sin insectos intermediarios, pero el peso específico de este tipo de miel en el conjunto global de la producción es muy escaso (García, 2003).

##### **3.5.1.1. Néctar y nectarios**

El néctar, es recolectado por las abejas pecoreadoras, las cuales lo liban desde unas glándulas de las plantas llamadas nectarios. Los nectarios pueden encontrarse en cualquier parte aérea de los vegetales. Las abejas pueden transportar aproximadamente 70 mg en su estómago. De vuelta en la colmena, es transferido directamente a otra abeja a través de su aparato bucal, conducta que se repite sucesivamente y que se denomina trofalaxis. En este procedimiento el néctar aumenta su densidad y se adicionan secreciones de varias glándulas utilizadas para la elaboración de la miel, especialmente de las glándulas hipofaríngeas que aportan enzimas como la invertasa, diastasa y gluco-oxidasa (Avilez, 2009).

El néctar tiene la misión de atraer a los polinizadores. Las abejas al acceder al néctar floral por el interior de la corola contactan necesariamente con los órganos

reproductores de la flor y se impregnan de polen que será después transportado hasta la parte femenina de otra flor. De este modo, existe un beneficio mutuo, el insecto obtiene alimento y, actuando como vector de dispersión del polen, se incrementa la probabilidad de ser polinizada.

Cuando el néctar es depositado por las abejas en las celdillas, se han completado cambios en su composición, denominándose “miel inmadura”. La transformación final se realiza gracias a la acción enzimática y la deshidratación de la miel, alcanzando un contenido de agua cercano al 18 % (Vásquez, 2010).

La composición del néctar es muy compleja, contiene: agua (30 - 70 %), diversos tipos de azúcares, algunas dextrinas, pequeñas cantidades de sustancias nitrogenadas y fosforadas, vitaminas, sales minerales y enzimas; puede contener a veces pequeñas cantidades de ácidos orgánicos, aceites esenciales, alcaloides y pigmentos (Dardón, 2008).

En el néctar se han encontrado las siguientes vitaminas: tiamina, riboflavina, piridoxina, niacina, ácido nicotínico, ácido pantoténico, ácido fólico, biotina y ácido ascórbico; componentes minoritarios: compuestos nitrogenados, minerales, ácidos orgánicos, vitaminas, enzimas, pigmentos y sustancias aromáticas. Su contenido en cenizas oscila entre el 0,027 y el 0,45 %. Normalmente tiene una reacción ácida o débilmente neutra (pH = 2,7- 6,4). El contenido total de azúcares en el néctar varía considerablemente, desde un 5 hasta un 80, existiendo grandes diferencias entre los azúcares presentes y sus proporciones relativas. Se pueden distinguir básicamente 3 tipos de néctar, según su espectro de azúcar:

- Aquellos en los que predomina la sacarosa.
- Otros en los que predominan glucosa y fructosa.
- Los que tienen cantidades parecidas de sacarosa, glucosa y fructosa.

El hecho de que el espectro de azúcares en los néctares no sea uniforme, tiene una importancia práctica en apicultura, ya que la abeja prefiere mezclas de distintos azúcares al predominio de uno sólo. Por ello, es posible que en la elección de su fuente de alimento las abejas estén influenciadas no sólo por la concentración y cantidad de néctar, sino por el espectro de azúcares del mismo (León, 2013).

### **3.5.1.2. Mielato, mielada o melaza**

Los mielatos, mieladas o melazas son secreciones azucaradas emitidas mayoritariamente por un gran número de especies de insectos pertenecientes a la familia Aphididae del orden Homoptera. Estos insectos viven parásitos sobre

diversas plantas. Con su aparato bucal especializado, perforan las partes tiernas del vegetal hasta llegar a los vasos conductores y succionan las sustancias nutritivas contenidas en el floema. Posteriormente, el insecto expulsa en forma de pequeñas gotitas, los azúcares que no puede digerir, junto con otros elementos resultantes de la transformación digestiva. Estas gotitas ricas en azúcares caen sobre las hojas y otras partes del vegetal, constituyendo el mielato que las abejas recogerán como si fuese néctar y transformarán en miel de mielato (Vit, 2008).

La composición de los mielatos referida a los azúcares es mucho más compleja que la del néctar. Los azúcares mayoritarios son: fructosa, glucosa, sacarosa y melecitosa; la mayoría de las veces la fructosa es predominante. Otros azúcares presentes en menor proporción, son trehalosa (disacárido característico del metabolismo del insecto) y trisacáridos como la fructomaltosa. Algunos de estos azúcares los produce el propio áfido, encontrando una actividad transglucosilasa capaz de convertir la sacarosa por adición de glucosa en melecitosa (Vázquez, 2010).

### **3.5.1.3. Otras fuentes**

Existen nectarios extra florales que también pueden ser aprovechados por las abejas para la producción de miel.

A este conjunto de aprovechamientos esporádicos, se denomina “otras fuentes”, ya que existen discrepancias acerca de su encuadramiento, unas veces como mieles de mielato y otras como mieles de tipo floral. En cualquier caso, la significación real en la producción nacional es muy pequeña. Serán las influencias meteorológicas, la propia abundancia, los períodos de escasez y el instinto de recolección, los factores que determinen su significación real. (García, 2003; Vázquez, 2010)

## **3.5.2. Clasificación de la miel**

### **3.5.2.1. Su origen botánico**

**Miel de flores o miel de néctar:** es la miel que procede del néctar de las plantas. Se puede clasificar como:

**Multifloral (o milflores):** Son aquellas que proceden de una flora variada, no habiendo una contribución floral predominante, lo cual hace difícil identificar su procedencia exacta.

**Miel bifloral:** En la composición polínica se encuentra polen de dos especies, ambas mayor o igual al 45 % y en proporción similar, con una diferencia menor al 5 % (Vázquez, 2010).

**Monofloral:** Son las mieles que provienen mayoritariamente de una especie vegetal determinada y poseen, por tanto, características organolépticas, físico-químicas y palinológicas específicas, pudiendo las definir de una manera bastante precisa.

**Miel de mielada, mielato:** Es la miel que procede en su mayor parte de excreciones de insectos chupadores de plantas (*hemípteros*) o desecreciones de las partes vivas de las plantas (León, 2013).

### **3.5.2.2. Según el procedimiento de obtención**

**Miel escurrida:** Es obtenida por escurrimiento de los panales desoperculados, sin larvas.

**Miel prensada:** Obtenida mediante la compresión de los panales desoperculados, sin larvas.

**Miel centrifugada:** Se obtiene mediante la centrifugación de los panales desoperculados, sin larvas.

**Miel filtrada:** Es obtenida al eliminar la materia orgánica o inorgánica ajena a la miel. Cuando el filtrado conduce a la eliminación de una importante cantidad de polen, debe denominarse como 'miel filtrada'

### **3.5.2.3. Según su presentación**

**Miel líquida:** Es la miel en su estado líquido.

**Miel cristalizada o granulada:** La que ha experimentado un proceso natural de solidificación, como consecuencia de la cristalización de la glucosa.

**Miel cremosa:** Tiene una estructura cristalina fina y ha sido sometida a un proceso físico, que le confiere esa estructura y que la hace fácil de untar.

**Miel en panal:** Miel depositada por las abejas en panales recién contruidos, sin larvas; presentada en panales enteros, cerrados o en secciones de tales panales.

**Miel con trozos de panal o panales cortados:** Miel que contiene uno o más rozos de panales de miel (Vázquez, 2010).

## **3.6. Elaboración de la miel**

La elaboración de la miel se realiza en cuatro etapas consecutivas:

- Recolección de la materia prima por las abejas pecoreadoras.

- Aireación del contenido del buche mielario para la reducción del agua y la inversión de azúcares.
- Almacenamiento de la miel en formación en las celdillas del panal y ventilación para siguientes reducciones del contenido en agua.
- Operculado de la miel madura.

### **3.6.1. Recolección**

La abeja pecoreadora absorbe el néctar o la mielada. A continuación, la sustancia recogida se pasa a través de la faringe y del esófago al buche (estómago), donde se almacena para después transportarlo a la colmena. En el trayecto la abeja filtra las partículas sólidas contenidas en la sustancia ingerida gracias al proventrículo, enviándolas al intestino. De esta forma, algunos contaminantes, son eliminados, a la vez que el número de granos de polen de gran tamaño se reduce (Leisnys, 2008).

Durante el transporte, el néctar o la mielada contenido en el buche de la abeja sufre ya una primera transformación debida a la acción de un enzima, la invertasa, que inicia el desdoblamiento del disacárido sacarosa en sus dos monosacáridos integrantes: fructosa (levulosa) y glucosa (dextrosa).

En la cabeza y en el tórax de la abeja hay varias glándulas que son fundamentales para la transformación del néctar en miel. Estas glándulas segregan diversos enzimas (diastasa, invertasa, glucosaoxidasa) que se añaden al néctar durante su recolección y almacenamiento en el estómago (buche), donde el agua contenida en el néctar comienza a ser absorbida por las células de la pared, pasando después a la hemolinfa, desde donde es evacuada por las células de Malpighi (Figueroa, 2013).

### **3.6.2. Aireación**

La segunda etapa en la producción de la miel se realiza en la colmena y se desarrolla en dos fases. Una activa, en la que sólo las abejas receptoras toman parte, y otra pasiva, en la que participa la totalidad de las abejas de la colmena.

En la fase activa, las abejas encargadas de la elaboración de la miel alargan su glosa y regurgitan una gota de su buche mielario, la gota se desliza por la lengua estirada, de modo que la superficie de evaporación aumenta, quedando expuesta a la corriente de aire caliente del interior de la colmena. Luego la vuelve a absorber o la pasa a otras abejas. Este fenómeno, en que las gotas son regurgitadas y deglutidas de la glosa al buche, es muy rápido y se repite durante 15 o 20 minutos, incorporando enzimas adicionales para continuar la transformación iniciada en el buche de la abeja recolectora (León, 2013).

El proceso de aireación se va haciendo cada vez más difícil por el aumento de la viscosidad del líquido y finalizará cuando el contenido en agua se encuentre entre el 30 % y el 40 %. En este momento se deposita la gota en una celdilla y comienza la fase pasiva del proceso de maduración de la miel, que consiste en una intensa ventilación operada por las abejas sobre los panales.

### **3.6.3. Almacenamiento y ventilación: maduración**

En esta fase la evaporación es indirecta, causada por las intensas corrientes de aire que de forma natural y sin participación directa de las abejas ocurren en el interior de la colmena, especialmente durante la noche. Con el producto intermedio a modo de gotitas o de película fina se rellenan las celdillas, en un principio hasta un tercio o un cuarto de su volumen. La proporción de agua se reduce hasta un nivel inferior al 18 -19 % aproximadamente.

Este proceso de maduración dura de uno a tres días y en él influye la población de la colmena, la oferta de fuente nectarífera, el contenido en agua de materia prima, el grado de llenado de las celdillas y factores climáticos como humedad, temperatura y viento (Rodríguez, 2012).

### **3.6.4. Operculado**

Con el fin de impedir el contacto de la miel con el aire, del que podría absorber agua por su capacidad higroscópica, las abejas operculan (cierran) las celdillas con cera. De este modo se conserva la miel.

La miel transformada o madura se caracteriza porque, después de ocurridas las reacciones químicas citadas y otras, en el polarímetro se aprecia que el plano de luz polarizada gira a la izquierda, debido a que la fructosa es levógira, mientras que el néctar primitivo era dextrógiro (Valle, 2001).

## **3.7. Obtención de la miel**

La miel absorbe del ambiente tanto la humedad como los olores y a retener el polvo y otros materiales ligeros con los que llegue a estar en contacto.

El apicultor recoge la miel de la colmena cuando las celdillas de los panales están llenas y operculadas, es decir, cerradas con cera por las abejas.

La miel se ha cosechado tradicionalmente por métodos rudimentarios: ahuyentando con humo las abejas, exprimiendo los panales con las manos, dejándolos escurrir al lado del fuego del hogar o utilizando prensas sencillas. En las colmenas actuales, la presencia de cuadros móviles o panales facilita la obtención de la miel, en un

proceso que se desarrolla según la moderna tecnología apícola en una serie de etapas bien definidas:

Deshumificación y desoperculado.

Centrifugación y filtrado.

Decantación y limpieza.

### **3.7.1. Deshumificación y desoperculado**

Antes de proceder a la desoperculación, la eliminación de la cera que a modo de opérculos tapa las celdillas que contienen miel madura para permitir la salida de la miel es bueno controlar el grado de humedad de la miel, especialmente cuando los panales no están completamente operculados.

Para ello, se toman algunas muestras de miel de las celdas del panal en posición central y periférica, se efectúa la medida de la humedad con un refractómetro y se calcula la media de los valores obtenidos. Si ésta es inferior al 18 % se puede proceder al desoperculado; en caso contrario es necesario deshumidificar la miel mediante una corriente de aire seco recurriendo al mismo sistema usado por las abejas ventiladoras (Piccirillo, 1998).

La deshumificación es tanto más rápida cuanto más elevada es la temperatura y cuanto mayor es el volumen del aire que circula por los panales. Con todo, la temperatura no debe superar los 38° C si se quiere que la miel conserve sus estimables características organolépticas. Es necesario garantizar la circulación de aire seco limpio, libre de polvillo y de malos olores, elementos a cuya retención se debe proceder en filtros adecuados.

El desoperculado se realiza mediante el uso de peines o cuchillos. Ambos instrumentos son idóneos, y la elección de uno u otro depende de la costumbre de cada apicultor. Para una mayor rapidez de trabajo es bueno que el cuchillo sea calentado, ya por inmersión en agua caliente, ya eléctricamente; si tiene calentamiento eléctrico, debe estar provisto de un termostato que regula la temperatura a fin de evitar que un sobrecalentamiento perjudique la miel.

Es importante que en el proceso de desoperculado toda la cera se separe perfectamente para evitar que se mezcle con la miel, lo que sucedería de forma inevitable en los calentamientos que posteriormente sufre la miel para su manejo (Ciappini, 2009).

### **3.7.2. Centrifugación y filtrado**

La mayor parte de la miel comercializada actualmente procede de la centrifugación de los panales. Las mieles de prensado están en vías de desaparición porque presentan un acentuado sabor a polen y a cera, sobre todo si provienen de panales viejos.

La miel de escurrido es poco común porque su extracción es cara y no exenta de inconvenientes: implica de hecho la destrucción del panal y requiere mucho tiempo, lo que favorece los intercambios higrométricos con el ambiente (Gutiérrez, 2008).

Otro factor a tener en cuenta es la densidad de la miel a extraer. Cuando es muy densa, se debe empezar con una velocidad moderada que se debe aumentar progresivamente después.

Para eliminar los fragmentos de cera y de abejas y otras impurezas que inevitablemente se mezclan con la miel durante la centrifugación, es necesario realizar posteriormente un filtrado que debe seguirse de decantación.

Para el filtrado se colocan tamices o mallas de 1,8-2 mm de luz a la salida del extractor. Debe evitarse el uso de filtros microscópicos que impidan el paso de los granos de polen, indicadores del origen botánico y geográfico de la miel (Gutiérrez, 2008).

Con las mieles de cristalización rápida (diente de león, colza, alerce). Es a veces imposible proceder al filtrado porque los cristales obstruyen los orificios del tamiz y lo bloquean. Será entonces necesario disolver los cristales mediante calor, lo que puede hacerse antes de extraer la miel de los panales o después de la centrifugación. La segunda solución debe adoptarse sólo en los casos en que se trabaje con cantidades modestas de miel.

### **3.7.3. Decantación y limpieza**

En el proceso de decantación se eliminan las burbujas de aire como las variadas impurezas que pueden permanecer en la miel después de los procesos de filtrado (restos de cera, propóleos, trozos de abejas, restos minerales y otras impurezas), como para dejar reposar el producto, "castigado" durante la centrifugación (Kumul, 2015).

Este proceso dura desde unos pocos días hasta un mes, según el tipo de miel y la temperatura utilizada y, en cualquier caso, ha de permitir la a floración de todas las burbujas de aire contenidas en la miel. Trabajando a la temperatura de 30° C, que es la más adecuada, en 15-20 días se obtiene una miel limpia y libre de aire.

En el caso de mieles de cristalización rápida se debe proceder a la saca 1-2 días después de la extracción, pues de otro modo cristalizan antes de su almacenado. Y finalmente el desespumado debe hacerse con gran minuciosidad repitiéndolo, si es necesario, 2-3 veces en días sucesivos (García, 2003).

### 3.8. Composición química de la miel

La miel es un líquido complejo natural que contiene más de 180 sustancias. Es un producto con una alta concentración de azúcares. Presenta como constituyentes minoritarios minerales, proteínas, vitaminas, ácidos orgánicos, flavonoides, ácidos fenólicos, y enzimas, entre otros; la composición química compleja de la miel es dependiente en gran medida del origen floral, condiciones regionales, climáticas y de procesamiento (León, 2013).

Tabla 1: Composición química de la miel

<b>Compuestos</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Azúcares	70,00 – 75,00
Agua	10,00 – 20,00
Proteínas	0,01 – 0,20
Ácidos orgánicos	0,59
Minerales	0,04 – 0,20

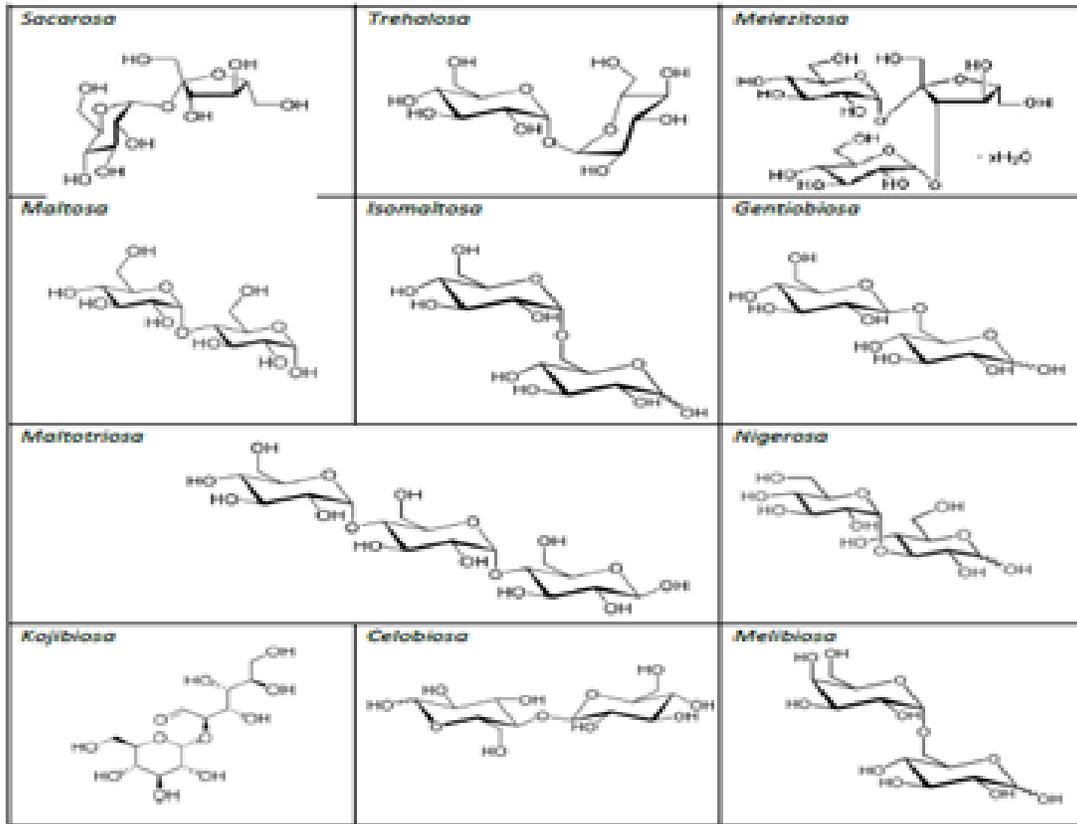
(Rodríguez, 2012)

Tabla 2: Constituyentes de miel

<b>Constituyentes mayores</b>	<b>Promedio (%)</b>	<b>Rango (%)</b>
Agua	17,0	13,4 – 26,6
Fructosa	39,3	21,7 – 53,9
Glucosa	32,9	20,4 – 44,4
Sacarosa	2,3	0,0 – 7,6
Maltosa	7,3	2,7 – 16,0
Polisacáridos	1,5	0,0 – 8,5
<b>Constituyentes menores</b>	<b>Promedio (%)</b>	<b>Rango (%)</b>
Ácidos totales	0,57	0,17 – 1,17
Minerales	0,17	0,02 – 1,03
Nitrógeno	0,04	0,00 – 0,13
Enzimas	< promedio	< promedio
Constituyentes aromáticos	< promedio	< promedio
Otras sustancias	< promedio	< promedio

(Bachman, 2007)

Imagen 4: Estructura de algunos oligosacáridos de la miel



(Bachman, 2007)

### 3.8.1. Carbohidratos

La miel se compone de diferentes azúcares (en alrededor de 70 – 85 %) a esto se debe la consistencia pegajosa y viscosa, y su alta densidad, (1,3 - 1,4 g/mL), los principales azúcares de la miel son de composición simple o monosacáridos fructosa (30,9 - 44,3 %), y glucosa (22,9 – 40,8 %), y son las unidades con las cuales se construyen azúcares más complejos (La miel de flores es más rica en azúcares simples, contiene menos ácidos y es más pobre en disacáridos que la miel de mielada); azúcares como sacarosa (0,8 - 10 %), maltosa (0,5 - 2,8 %), isomaltosa (0,5 - 1,5 %), turanosa (0,5 - 1,5 %), nigerosa (0,2 - 1,0 %); otorgan a cada tipo de miel propiedades físicas características, como son el índice de refracción, la actividad de agua, higroscopicidad, tendencia a la granulación, así como su poder rotatorio (acción de la miel sobre la luz polarizada). (Soto, 2008).

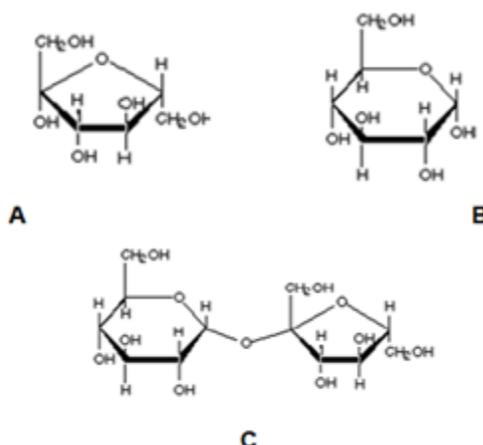
Tabla 3: Principales azúcares de la miel

Componentes	Promedio	Rango
Fructosa	38,2	27,2 – 44,3
Glucosa	31,3	22 – 40,7
Maltosa y otros disacaridos	7,31	2,7 – 16,2
Azúcares superiores	1,5	0,1 – 8,5

(Rodríguez, 2012)

Valores superiores al 8 % en contenido de sacarosa se asocia con una alimentación con azúcar a las abejas o bien adición de sacarosa a la miel. La cantidad de ella ha sido utilizada como medio para detectar adulteración de la miel por adición de esta (Soto, 2008).

Imagen 5: Algunos Azúcares de la miel



(Bachman, 2007)

### 3.8.2. Agua

El contenido en agua de una miel está relacionado con diferentes factores en la etapa de producción y colectado, factores como la humedad ambiental y edáfica, la flora y la abundancia de la fuente de néctar y el momento de extracción adecuado. También, dependiendo de cuál sea la estación del año de cosecha y las condiciones climatológicas, las mieles presentan diferencias típicas en su humedad. Esto puede afectar a las propiedades físicas de esa miel (viscosidad y cristalización) y a la relación glucosa/agua (León, 2013).

El contenido de agua de acuerdo al *Codex Alimentario*, no debe de exceder al 20 %; en caso de ser superior la miel podría estar propensa a la fermentación, lo que

acorta la vida de anaquel del producto. Sin embargo, algunas mieles monoflorales pueden contener normalmente contenidos de agua mayores como la de castaño 17-19 % y brezo hasta 21 % entre otras (Codex, 1993/14).

### **3.8.3. Proteínas, aminoácidos y enzimas**

La miel contiene alrededor de 0.5 % de componentes proteicos, principalmente en forma de enzimas y aminoácidos libres. Su origen puede ser aportado por las abejas como enzimas, o de origen vegetal como aminoácidos libres y otras proteínas. Las mieles que provengan de plantas con mucha cantidad de polen tendrán mayor porcentaje proteico.

#### **3.8.3.1. Proteína y aminoácidos**

El contenido de proteína es generalmente bajo. Los aminoácidos libres esenciales provienen probablemente de las glándulas salivales de las abejas. En el Cuadro 3 se muestran algunos de los aminoácidos encontrados en mieles de origen floral y de mielada (Pérez, 2007).

La prolina es el aminoácido mayoritario, desde el punto de vista cuantitativo representa casi el 50 %. El contenido de este aminoácido puede ser empleado para distinguir mieles genuinas de miel que se produce con una fuente diferente a la floral.

Este aminoácido se usa como índice de calidad referido a la maduración de la miel y de posibles adulteraciones, de esta forma si la miel ha sido recogida inmadura o si las abejas han sido alimentadas con azúcar comercial, el contenido en prolina será anormalmente bajo.

También se han encontrado 26 aminoácidos libres, cuyas proporciones dependerán del origen composicional (néctar o mielato). Los más frecuentes suelen ser lisina, fenilalanina, tirosina, ácido glutámico y ácido aspártico. Los aminoácidos, junto con los alcoholes, ésteres, aldehídos y ácidos, son determinantes en las propiedades organolépticas de la miel, contribuyendo a su aroma característico. Siendo el polen la mayor fuente de aminoácidos en la miel, este podría ser característico de su origen botánico e incluso geográfico (León, 2013).

#### **3.8.3.2. Enzimas**

Las enzimas cumplen con un papel importante, no porque ellas tengan un significado nutricional en la dieta humana, sino porque juegan una parte vital en la transformación de miel, a partir del néctar de las plantas. Las enzimas son sensibles al calor y un nivel extra-bajo puede indicar que la miel ha sido sobrecalentada; este

aporte por las abejas, se realiza cuando traspasan la miel de su buche a las celdillas. Una miel tendrá más enzimas si ha sido producida en una floración lenta, que permita que muchas abejas realicen trofolaxis de esa miel para su maduración. Las enzimas, entre otras cosas, conceden un carácter antiséptico a la miel, ya que una de ellas, la catalasa, transforma la glucosa en ácido glucónico liberando agua oxigenada o peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Ureña, 2007). Entre las enzimas más importantes se puede citar:

#### **3.8.3.2.1. Invertasa**

Esta enzima es indudablemente la enzima más importante, la acción de esta es sobre la sacarosa del néctar, produciendo seis oligosacáridos los cuales son hidrolizados a glucosa y fructosa principalmente, y maltosa en pequeñas cantidades.

Se ha demostrado que en las mieles calentadas, la invertasa es destruida más rápidamente que la diastasa, por lo cual la actividad de esta enzima sería mejor indicador de la calidad de la miel que la actividad de la diastasa, la actividad de la invertasa desaparece rápidamente entre los 55°C y 65°C, iniciándose su inactividad a los 40°C luego de 10 minutos de exposición al calor (Montenegro, 2015).

#### **3.8.3.2.2. Diastasa ( $\alpha$ - y $\beta$ -amilasa)**

La relevancia principal, es que es muy sensible al calentamiento. Bajos niveles de amilasa en la miel pueden ser usados como un indicador que la miel ha sido sobrecalentada. Esta enzima también sufre degradación con el tiempo de almacenaje y varía entre los diversos tipos de mieles de acuerdo a algunos factores como: el estado fisiológico de la colonia, la abundancia de néctar y su contenido de azúcar, la edad de las abejas y el consumo de polen.

#### **3.8.3.2.3. Glucoxidasa**

La  $\alpha$ -glucoxidasa es la enzima que la abeja adiciona al néctar para transformar la sacarosa a glucosa y fructosa, paso vital en la transformación del néctar a miel. Esta enzima se origina en la glándula hipofaríngea de la abeja. Se ha encontrado glucoxidasa en la glándula hipofaríngea de las abejas, como así mismo en la miel, por lo que se piensa que su origen reside en la abeja (García, 2003). Como resultado de su acción sobre la glucosa en presencia de oxígeno, produce ácido glucónico y peróxido de hidrógeno; este último sería responsable de la inhibición o actividad antibiótica atribuida desde hace mucho tiempo a la miel (Soto, 2008).

Tabla 4: Enzimas de la miel

Enzima	Función
Invertasa	Convierte la sacarosa en glucosa y fructosa.
Diastasa	Hidroliza el almidón a dextrina y/o azúcar.
Glucosa-oxidasa	Convierte glucosa a glucolactona; este a su vez produce ácido glucónico y peróxido de hidrógeno.
Catalasa	Convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.
Fosfatasa ácida	Remueve fosfatos inorgánicos de fosfatos orgánicos.

(Bachman, 2007)

#### 3.8.4. Cenizas

Los contenidos minerales pueden ser fácilmente contaminados por el ambiente, el manejo del apicultor o las condiciones del suelo, de forma general se considera que la presencia de elementos minerales en la miel es bajo y muy variable, en torno a un 0.2 % en mieles de origen floral y de un 1 % en mieles de mielato. El elemento más abundante es el potasio que representa hasta un 80 % de la materia mineral total. Otros elementos habitualmente encontrados son: Ca, Na, Fe, P, Mg, Zn, Cu y Mn. En tabla 5 se muestran algunos minerales presentes en la miel (Kumul, 2015) Algunos de los metales que se encontraron en mínimas cantidades provienen probablemente de los materiales usados durante el procesamiento de la miel (centrifugación, contaminación procedente del contenedor en el almacenamiento).

Tabla 5: Minerales presentes en la miel

Mineral	Contenido ppm
Sodio	73 - 163
Potasio	500 - 2095
Calcio	160 - 900
Hierro	1,72 - 2,64
Cobre	0,09 - 0,42
Zinc	0,54 - 0,68
Manganeso	0,59 - 9,69

(Bachman, 2007)

### 3.8.5. Otros constituyentes minoritarios

#### 3.8.5.1. Vitaminas

A diferencia de otras matrices como las presentes en frutas y verduras, no se pierden de una forma rápida en su almacenamiento, sino que se conservan durante largo tiempo. Destacan la vitamina C, B (tiamina), el complejo B2 (riboflavina, ácido nicotínico) y la vitamina B6 (ácido pantoténico).

#### 3.8.5.2. Ácidos orgánicos

Estos representan el 0,57 % de la materia seca e incluyen al ácido glucónico, el cual es un producto de la digestión enzimática de la glucosa. Estos son responsables de la acidez de la miel y contribuyen de manera importante a las características organolépticas; también está el acético, butírico, cítrico, fórmico (también presente en el veneno de las abejas), láctico, málico, piroglutámico y succínico. Estos dan a la miel un pH ácido, entre 3,4 y 6,1. Las mieles de mielada tienen un pH más alto que las mieles de flores. (Zandamela, 2008).

En la Tabla se da un resumen de la composición de mieles.

Tabla 6: Constituyentes de la miel

<b>Nutriente</b>	<b>Cantidad por 100 g</b>
Agua	17,1
Carbohidrato	82,4
Fructosa	38,5
Glucosa	31
Maltosa	7,2
Sacarosa	1,5
Proteína	0,5
Vitamina	< 0,9
Calcio	4,8
Potasio	50
Fosforo	5
Magnesio	2

(Soto, 2008)

### **3.9. Calidad de la miel**

La miel al envejecer de manera natural o a causa de una mala conservación, puede sufrir diferentes alteraciones que merman su calidad. Estas alteraciones suelen ser fermentación, cristalización y otras alteraciones debidas al envejecimiento.

#### **3.9.1. Fermentación**

Es un proceso natural que sigue habitualmente a la cristalización o granulación; aunque también se puede producir tempranamente si se dan condiciones de humedad elevada (>20 %) de la miel, alta humedad relativa del aire, junto con una temperatura inadecuada de conservación y una carga inicial abundante de levaduras; este proceso es provocado por el crecimiento descontrolado de las levaduras osmófilas, presentes de manera natural en este alimento. Cuando la miel fermenta, la separación del hidrato de dextrosa (glucosa) de la solución deja una fase líquida, produciéndose las 2 fases características de la fermentación. Los productos de la fermentación son polioles: glicerol, D-arabitol, eritriol y manitol; y ácidos orgánicos, que originan un olor agrio y un burbujeo que hace desagradable y poco saludable a la miel (Simal, 2016).

#### **3.9.2. Cristalización**

Este proceso se produce porque la miel es una solución súper saturada en azúcares, es decir hay mucho azúcar en relación a la cantidad de agua que contiene. La forma monohidratada de la glucosa puede servir como semilla o núcleo de cristalización. Adicionalmente, la cristalización puede ser estimulada por cualquier partícula pequeña de polvo, polen, pedacitos de cera o propóleos, burbujas de aire, presentes en la miel. A mayor cantidad de glucosa y menor cantidad de agua, mayor rapidez de cristalización, así el coeficiente que resulta de dividir el porcentaje de glucosa entre el de agua, puede darnos idea de la tendencia a la cristalización (Rodríguez, 2013).

De forma general este fenómeno está muy relacionado con el tipo de miel. El mayor problema de la cristalización es que se forman dos fases, una sólida con la glucosa cristalizada y otra líquida, con todo lo demás. El alto contenido de agua de la fase líquida permite el crecimiento de las levaduras y provoca la fermentación, que es lo que realmente estropea el producto.

#### **3.9.3. Envejecimiento**

Si el envejecimiento de la miel es de manera natural conlleva el deterioro de las propiedades del producto. Habitualmente se produce un aumento de la acidez y del hidroximetilfurfural (HMF), se intensifica el color, disminuye el contenido en

azúcares reductores, la actividad enzimática y antibiótica, y se va perdiendo aroma y sabor característicos. Con el paso del tiempo este alimento pierde en parte sus características originales, de manera general se estiman dos años para un consumo preferente (León, 2013).

### **3.10. Propiedades funcionales de la miel**

Las propiedades curativas de la miel son muy diversas, debido al número de propiedades fisiológicas que posee; es antibacteriana, antiviral, antiparasitaria, antioxidante, antiinflamatoria, protectora del pardeamiento enzimático e incluso, posee propiedades antimutagénicas y antitumorales. La mayoría de estas propiedades son atribuidas a los compuestos fenólicos que contienen.

Entre estos compuestos fenólicos los de mayor potencial son los flavonoides que exhiben en sí mismos un amplio abanico de propiedades terapéuticas como antibacteriano, antiviral, antiinflamatorio, antialérgico y acción vasodilatadora (Sanz, 1994)

### **3.11. Antioxidantes**

El término “antioxidante” se refiere a cualquier molécula capaz de estabilizar o desactivar los radicales libres antes de que puedan atacar las células.

Los antioxidantes son compuestos que frenan la formación de Radicales Libres (RL), esto debido a su estructura química; previenen o permiten tratar las enfermedades causadas por el estrés oxidativo, o a su vez los antioxidantes son un conjunto de compuestos químicos o productos biológicos que contrarrestan de una manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales libres u oxidantes, tales como oxidación a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando las funciones celulares (León, 2013).

Los radicales libres son causantes de la oxidación de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos y esta oxidación provoca a su vez complicaciones biológicas incluyendo cáncer, mutaciones, envejecimiento y aterosclerosis.

Entre las moléculas biológicas que funcionan como antioxidantes se encuentran los compuestos fenólicos, destacando los flavonoides, compuestos nitrogenados y carotenoides entre algunos otros. En la imagen 6 se puede observar la nueva rueda de los alimentos en función de su capacidad antioxidante.

Imagen 6: Rueda de alimentos en función a su capacidad antioxidante



López, 2014)

Varios mecanismos se han propuesto para explicar la acción biológica de los polifenoles en animales. Se proponen dos clasificaciones: mecanismos generales o no específicos y mecanismos específicos, dependiendo de las particularidades químicas y las características estructurales de los polifenoles con actividad biológica. Entre los mecanismos no específicos destacan la actividad antioxidante (secuestro radicales libres y quelación metales) y las interacciones de los polifenoles con membranas. En el caso de los mecanismos específicos se tienen las interacciones de los polifenoles con enzimas, factores de transcripción, entre otros (Hernández, 2013).

Tabla 7: Clasificación de los antioxidantes

	<b>Origen</b>	<b>Acción</b>
Exógenos	Vitamina E	Neutraliza el oxígeno Captura radicales libres Neutraliza peróxidos
	Vitamina C	Neutraliza el oxígeno Captura radicales libres Neutraliza peróxidos Regenera la forma oxidada de la vitamina E
	Beta-carotenos Flavonoides y licopenos	Neutraliza el oxígeno
Endógenos enzimáticos		<b>Cofactor</b>
	Superoxido dismutasa (SOD)	Cobre, sodio y magnesio
	Catalasa (CAT)	Hierro
Endógenos no enzimáticos	Glucation peroxidasa (GPx)	Selenio
	Glucation	Barreras fisiológicas que enfrenta el oxígeno
	Coenzima Q Ácido tioctico	Transportadores de metales

(Hernández, 2013)

### **3.11.1. Sistemas de defensa antioxidantes**

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN.

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente (membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular). La acción del antioxidante sacrifica su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas (lípidos, proteínas, ADN, entre otras) funcionalmente vital o más importante.

Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos. Actúan como eliminadoras, con el objetivo de mantener el equilibrio pro-oxidante/antioxidante a favor de estos últimos. Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen.

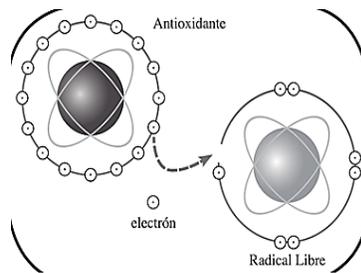
Los mecanismos homeostáticos antioxidantes con los que el organismo enfrenta el daño oxidativo son específicos, afines, numerosos y diversos; reflejando la necesidad de hacer frente a la multiplicidad de formas de radicales libres y especies reactivas; también son numerosos los compartimientos donde actúan en el organismo y en las células (Hernández, 2013).

### **3.11.2. Actividad antioxidante**

Un nutriente tiene propiedades antioxidantes cuando es capaz de neutralizar la acción oxidante de la molécula inestable de un radical libre sin perder su propia estabilidad electroquímica.

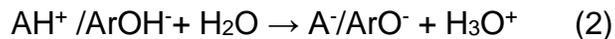
El organismo está luchando contra radicales libres a cada momento del día, pero el problema se produce cuando tiene que tolerar de forma continuada un exceso de radicales libres. El exceso es producido sobre todo por contaminantes externos que entran a nuestro cuerpo; la contaminación atmosférica, el humo del tabaco, los herbicidas, pesticidas o ciertas grasas son algunos ejemplos de factores que generan radicales libres al ser ingeridos o inhalados (Hernández, 2013).

Imagen 7: Capacidad Antioxidante



(Hernández, 2013)

Los mecanismos de acción antioxidante se basan en las siguientes reacciones:

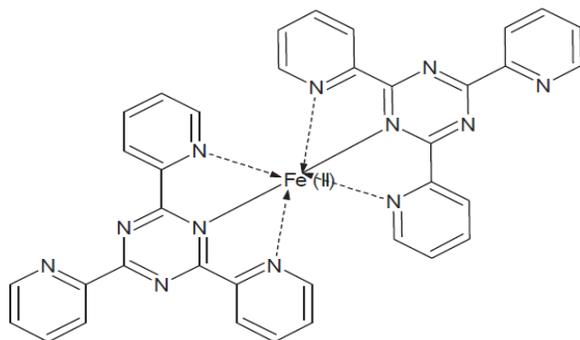


Estas reacciones (1, 2, 3) son relativamente lentas y dependientes del disolvente y del pH del medio de reacción. De hecho, en la mayoría de los ensayos basados en la ET- transferencia electrónica, la acción antioxidante se simula con una muestra de prueba de potencial redox, es decir, los antioxidantes reaccionan con una muestra de prueba colorida (agente oxidante). Los ensayos espectrofotométricos se basan en medir la capacidad de un antioxidante de reducir un oxidante, el cual cambia de color cuando se reduce. El cambio de color (ya sea un aumento o disminución de absorbancia a una determinada longitud de onda) está correlacionado con la concentración de antioxidantes en la muestra. (Resat, 2007).

### 3.11.3. Actividad antioxidante en el ensayo FRAP

El ensayo FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) implica medir la habilidad reductora del catión férrico. Se basa en la reducción del catión férrico a ferroso que forma un complejo en presencia de un ligando que estabiliza el Fe (II) tal como la 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ).

Imagen 8: Cation tripiridiltriazina ferrosa [Fe (H) (TPTZ)2]2+



(Benzie, 1996)

El ensayo FRAP puede presentar valores no representativos en análisis sobre muestras de tipo biológicas, debido a que el complejo colorido se forma a un pH = 3,6 definitivamente ácido, mucho más bajo que el pH fisiológico. Por otro lado, es poco sensible a compuestos antioxidantes del tipo tiol (o sea, que contienen SH). También se reportó que el ensayo FRAP puede presentar interferencias tanto en la cinética de la reacción de oxidación como en la cuantificación de algunos compuestos fenólicos. (Benzie, 1996).

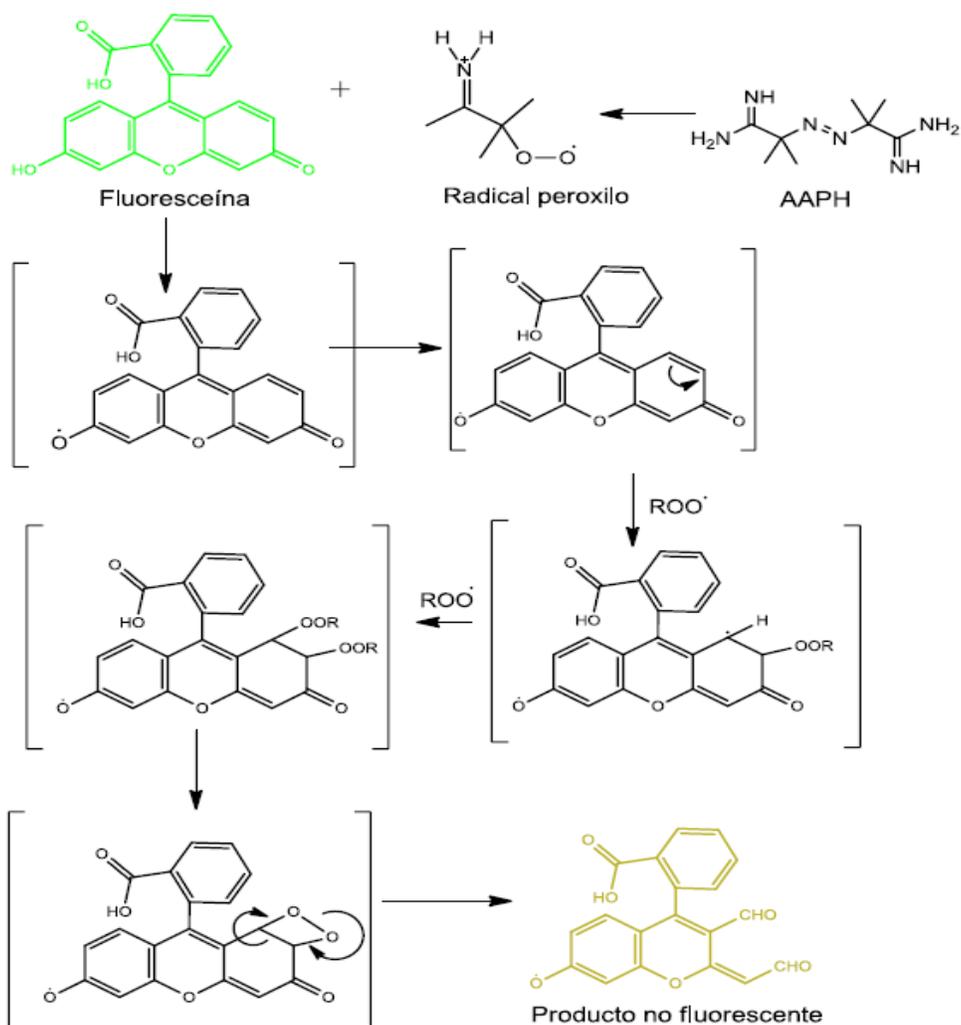
#### 3.11.4. Actividad antioxidante método ORAC

En el método ORAC, se mide la inhibición de la oxidación inducida por radicales peróxilo generados por AAPH (2,2'-azobis (2-amidinopropano)- dihidrocloruro), que por medio de una descomposición térmica produce nitrógeno molecular y radicales alquilo que en contacto con el oxígeno generan el radical piróxilo.

Al estar en contacto la fluoresceína con el radical libre generado a partir de la exposición del AAPH a 37°C, se da la donación del átomo de hidrógeno del grupo fenólico formando una fluoresceína estable, además el radical puede interactuar con el doble enlace conjugado a partir del cual por descomposición genera el producto final sin fluorescencia.

Una vez formado el radical peróxilo reacciona con la fluoresceína a través de mecanismo que aún no se conocen completamente. Las sustancias incorporadas a la reacción que tienen la posibilidad de disminuir la velocidad de oxidación y degradación de la sonda fluorescente, demostrarán su potencia en la medida que se disminuya su concentración en el medio de reacción y persista su capacidad de proteger la fluoresceína. (Ou, 2001)

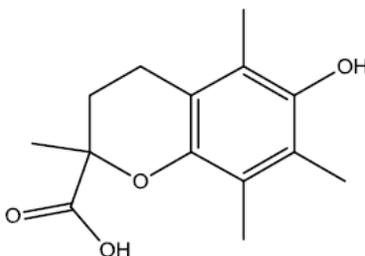
Imagen 9: Mecanismo de degradación de la fluoresceína por AAPH



(Chacón, 2015)

Para efectos de comparación se emplea una molécula que sea aceptada universalmente como antioxidante. El trolox cuyo nombre IUPAC es 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, es un compuesto que ha permitido que muchos alimentos y productos naturales sean fácilmente comparables en su capacidad antioxidante al ser expresados todos de la misma manera. (Brescia, 2012).

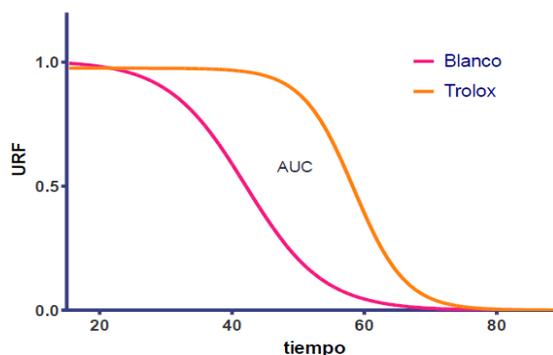
Imagen 10: Estructura química del trolox



(Brescia, 2012)

La cinética de degradación de la sonda fluorescente se compara contra la cinética de degradación en presencia de una sustancia que retarde este proceso. La disminución de la velocidad de degradación está definida y cuantificada por el área generada entre ambas cinéticas y descrita como área bajo la curva.

Imagen 11: Pérdida de la fluorescencia en el tiempo



(Chacón, 2015)

A partir de las unidades relativas de fluorescencia es posible realizar el cálculo del área bajo la curva (AUC).

$$AUC = (0,5 + \sum \frac{f_n}{f_1}) \times 5$$

Donde  $f_n$  es la lectura de la fluorescencia en tiempo  $n$  y  $f_1$  es la primera lectura de fluorescencia en tiempo cero. Con estos datos se puede comparar a la capacidad antioxidante entre concentraciones de una misma muestra. Finalmente, para tener datos comparables es necesario conocer los Equivalentes Trolox (ET) que es una medida universal empleando este compuesto.

Al obtener los datos es posible realizar diferentes comparaciones de la capacidad antioxidante entre los diferentes tipos de compuesto que disminuyen la oxidación, sin embargo, hay que tener en cuenta que en muestras como productos naturales y alimentos no se tiene únicamente un antioxidante, por lo cual se calcula la capacidad antioxidante total.

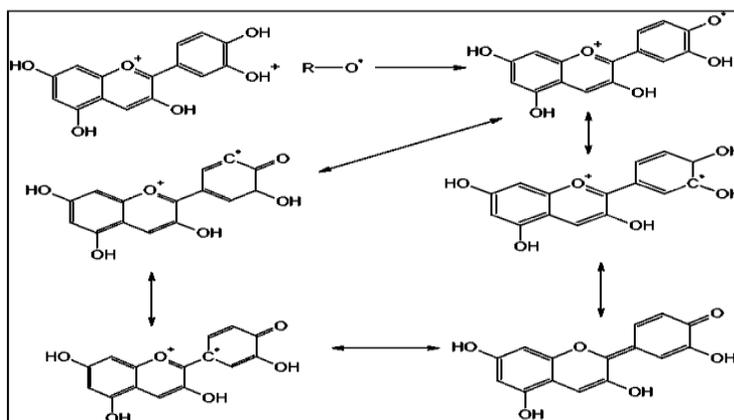
### 3.12. Compuestos polifenólicos

Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo.

Estos compuestos participan de diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente. Los fenoles están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Fredess, 2016).

Los flavonoides son derivados fenólicos sintetizados en cantidades substanciales por las plantas. Comprenden alrededor de 4000 compuestos identificados, son derivados hidroxilados, metoxilados y glicosilados de la 2 fenilbenzo y pirano, que consiste en dos anillos benceno combinados por mediación del oxígeno contenido en el anillo pirano. Estos compuestos poseen actividad antioxidante y capacidad para capturar radicales libres.

Imagen 12: Flavonoides



(Hernández, 2013)

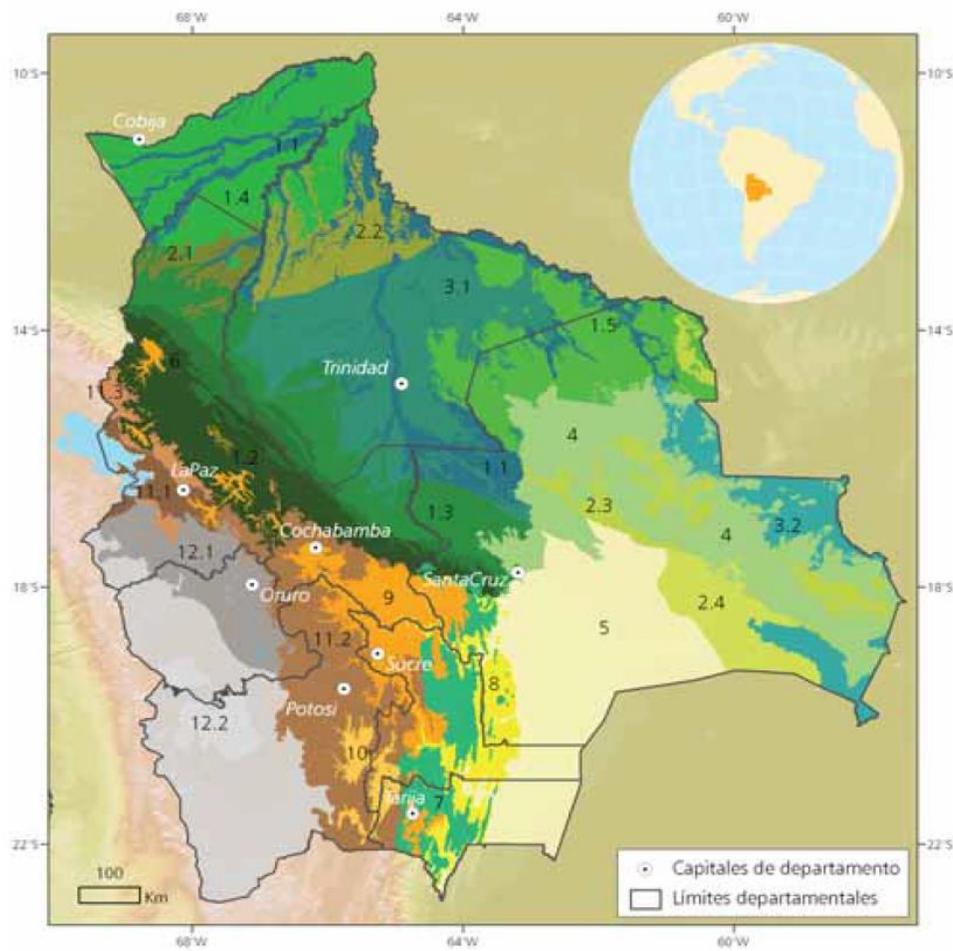
La actividad antioxidante de los distintos grupos de compuestos depende de la estructura individual y del número de oxidrilos sustituyentes, así como del peso molecular. En los flavonoides, esta característica se asocia con la presencia en la molécula de grupos orto-dihidroxi en el anillo B, un doble enlace entre el C2 y C3 en conjunto con la posición 4-oxo en el anillo C, y grupos 3 - 5 hidroxilo, y la función 4-oxo en los anillos A y C.

### 3.13. Eco-regiones de Bolivia

Una eco-región se podría definir como un área con una agrupación característica de localidades naturales, dinámicas ecológicas y condiciones ambientales similares y que muestra patrones comunes de producción de biomasa.

En la presente tesis se trabaja en las siguientes eco-regiones:

Imagen 13: Eco-regiones de Bolivia



(Ibisch, 2003)

- 1.2 Bosque amazónico sub-andino
- 10 Prepuna
- 6 Yungas
- 7 Bosque Boliviano-Tucumano
- 8 Chaco
- 9 Bosque seco interandino

### **Bosque amazónico sub-andino**

Los bosques amazónicos sub-andinos reflejan la influencia de los Andes en la diversidad de tierras bajas; Se localiza principalmente en los departamentos de Pando, Beni, Norte de La Paz, Santa Cruz y Cochabamba. Este tipo de bosque presenta características complejas en toda su extensión, presentando particularidades similares como la vegetación, el clima y las características de su topografía, este corresponde a una llanura ondulada a plana con una altitud entre 100 m.s.n.m. y 250 m.s.n.m.; son peniplanicies que rodean los bosques de las llanuras inundables, tiene un clima pluvioestacional, húmedo a subhúmedo, donde las precipitaciones varían entre 1800 mm y 2200 mm al año así como la temperatura promedio anual oscila entre 25 °C y 27 °C (Ministerio, 2014).

Una de las características de estos bosques, es que son siempre verdes con una estructura de tres o más estratos, un dosel de 30 m y árboles emergentes de hasta de 45 m de alto. Existe una variedad de familias arbóreas nativas. (Aguirre, 2009)

### **Yungas**

La ecoregión de los Yungas incluye los bosques andinos perhúmedos del oriente de los Andes. Su complejidad topográfica permite diferenciar varios pisos altitudinales, cada uno con una diversidad biológica característica, y es aquí donde el recambio de especies es mayor que en otras ecoregiones, haciendo de los Yungas el ecosistema más rico en especies de Bolivia, y con mayor número de endemismos. Abarca los departamentos de La Paz, Cochabamba y Santa Cruz; esta región presenta cadenas montañosas con lomas y laderas anchas hasta quebradas y valles estrechos, las rocas son sedimentarias y metamórficas, la altitud varía desde los 400 m.s.n.m. a 500 m.s.n.m., en el pie de monte hasta los 2800 msnm, altura a la cual el bosque montañoso húmedo se entremezcla con la ceja de monte yungueño.

El clima es variable por lo general es húmedo a subhúmedo, las precipitaciones están por encima de los 5000 mm al año por la zona del Chapare (Cochabamba), normalmente no sobrepasan los 2000 mm; la temperatura oscila entre los 17 °C a

24 °C; el dosel varía entre 15 y 25 m, los árboles emergentes alcanzan hasta 40 m de alto y rara vez tienen aletones y son siempreverdes en su mayoría, asimismo debido a la erosión hídrica y a la alta frecuencia de derrumbes naturales, el bosque montañoso presenta un mosaico de distintas localidades en diferentes etapas de sucesión.

Por otra parte, el bosque sobre el pie de monte tiene suelos profundos y relativamente fértiles, estructuralmente es parecido al bosque amazónico, tiene varios estratos, los árboles con aletones bien desarrollados y una cantidad intermedia de lianas y epifitas. Florísticamente estos bosques pertenecen a una zona de transición entre el bosque montañoso y la formación amazónica. La diversidad es alta, especialmente en zonas de alta precipitación, como la del Chapare (Cochabamba) e Iturrealde (La Paz).

La ceja de monte yungueña presenta un bosque con árboles de porte bajo a mediano, siempreverdes y de hojas coriáceas. Las epifitas, especialmente musgos y líquenes (Ministerio, 2014).

### **Bosque Boliviano-Tucumano**

El Bosque Tucumano Boliviano es una formación naturalmente muy fragmentada, con elementos deciduos, semideciduos y siempre verdes que ocupa la vertiente oriental de los Andes del Sur de Bolivia en este tipo de bosques predomina la actividad agrícola y el uso de suelo para ganadería y zonas de pastoreo es creciente.

Este comprende desde el norte de Argentina hasta los departamentos de Santa Cruz, Chuquisaca y Tarija; se encuentra en la cordillera oriental, tiene una altitud entre 800 m.s.n.m. en el fondo de los valles hasta 3000 m.s.n.m. El clima se caracteriza por presentar de 3 a 5 meses secos con precipitaciones de entre 1000 mm y 1700 mm por año; la temperatura promedio anual varía según los pisos altitudinales, desde 23 °C en la región de Bermejo hasta 13 °C en la zona altoandina, con una importante influencia de los vientos fríos del sur y los abundantes recursos hídricos han fomentado la colonización en la región. El bosque tucumano-boliviano ha sido por mucho tiempo una fuente de madera fina y de construcción para el uso local y la exportación (Aguirre, 2009).

### **Chaco**

Es un complejo de bosques bajos, matorrales espinosos, sabanas secas y tierras húmedas en las Provincias Cordillera y parte de Chiquitos del departamento de Santa Cruz, Luis Calvo del departamento de Chuquisaca y Gran Chaco del

departamento de Tarija. Topográficamente se caracteriza por una llanura, pero existen varias colinas, lomas y pequeñas serranías, con una altitud que varía desde 300 m.s.n.m. hasta 600 m.s.n.m.

Las precipitaciones varían desde 500 mm a 1000 mm; la época seca tiene una duración de 4 a 8 meses, la temperatura media anual es de aproximadamente 22 °C cerca de la cordillera y de 26 °C en el interior del Chaco.

El bosque seco chaqueño se caracteriza por sus numerosas plantas suculentas y/o espinosas. La localidad vegetal más común tiene un dosel continuo y bajo (menor a 8 m) con varias especies emergentes de hasta 15 m de alto (Aguirre, 2009).

### **Bosque seco interandino**

Los Bosques Secos Interandinos incluyen un complejo de formaciones vegetales deciduas que ocupan los valles andinos, principalmente al centro y sur del país; son otro centro importante de endemismos para Bolivia, en parte gracias a su naturaleza fragmentada y heterogénea.

Abarca desde la región Sur del departamento de Cochabamba, los Valles de Chuquisaca, Potosí y Tarija; y región occidental de Santa Cruz (Samaipata, Comarapa, Moro Moro, Pampa Grande, Mairana, Trigal, Quirusillas y Vallegrande), presenta una serie de mesetas, colinas y montañas, entre una altitud de 500 m.s.n.m. a 3300 m.s.n.m.

Las temperaturas máximas promedio llega a 28 °C y las mínimas a 2 °C, la temperatura anual promedio es de 12 °C a 16 °C; la época seca se prolonga entre 6 y 8 meses, mientras que las lluvias caen en periodos cortos con mayor intensidad entre los meses de diciembre a febrero entre un rango de 500 mm a 700 mm. Forma un conjunto de bosques secos, chaparrales y matorrales; el bosque seco se encuentra al fondo de los valles con un estrato superior entre 4 y 6 m de alto y, excepcionalmente llegan hasta los 8 m habitan diferentes especies de *Prosopis chilensis* (algarrobo), (kiñi), (molle), (ceibo), mientras que en las laderas crece con mayor frecuencia *Jacaranda mimosifolia* (jacarandá o tarco), *kageneckia lanceolata* (higuerilla) (Ministerio, 2014).

### **Prepuna**

La Prepuna ubicada al sur de Bolivia, es un matorral espinoso deciduo, con cactáceas columnares y especies rastreras que constituye un centro de endemismo para las familias Bromeliaceae y Cactaceae, siendo probablemente el centro de origen de esta última en Sudamérica.

En los Bosques Secos Interandinos y la Prepuna predominan actividades como la agricultura, la ganadería, al aprovechamiento de leña y madera.

entre 2.300 y 3.200 m (en los departamentos de Chuquisaca, Potosí y Tarija), la cual fue luego reconocida como una de las ecorregiones de Bolivia, las precipitaciones oscilan entre 200 y 350 mm anuales, son estrictamente estivales y solo se producen en forma de lluvia, lo que la incluye en la categoría de semidesierto cálido con temperaturas medias: 15 - 19°C (Aguirre, 2009).

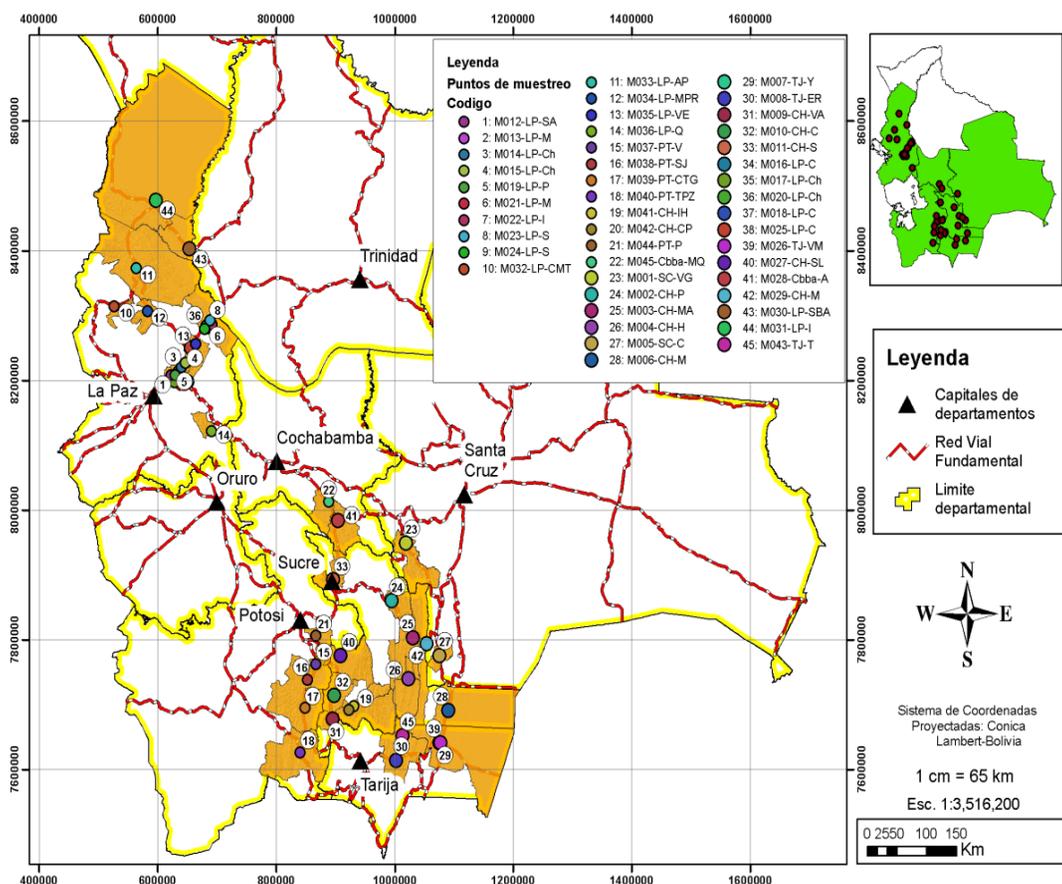
# CAPITULO IV

## 4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 4.1. Colecta de muestras

Se colecta 45 muestras de mieles de diferente origen floral y diferentes regiones de Bolivia: 5 de los Bosque seco interandino, 5 de los Bosque boliviano-tucumano, 5 del Chaco, 11 de la Pre-Puna, 14 de los Yungas, 5 de los Bosque amazónico sub-andino, que se muestran en la Imagen 14, puntos muestreados a lo largo del país; en la etapa de muestreo la colecta se realizó en recipientes de 500 g y 1000 g asignándole un código según la región, también se consideran datos como la ubicación geográfica, altura y se identifica las mieles con tiempo transcurrido desde la cosecha hasta la adquisición de la muestra mayor a 6 meses; en la Tabla 8 se expresa el detalle los datos colectados.

Imagen 14: Puntos de muestreo de mieles de abeja



(Elaboración propia)

Tabla 8: Información de los puntos de muestreo

Región	Código	Localidad/ Municipio	Departamento	Ubicación Geográfica	Altura m.s.n.m.
Pre-Puna	M009-CH-VA	Villa Abecia	Chuquisaca	20°58'28,17''S 65°13'50,51''W	2394
	M010-CH-C	Camargo	Chuquisaca	20°38'15,45''S 65°12'30,99''W	2404
	M037-PT-V	Vitichi	Potosí	20K 0239279 UTM 7764228	3031
	M027-CH-SL	San Lucas	Chuquisaca	20°05'37,5"S 65°07'53,6"W	3032
	M044-PT-P	Puna	Potosí	20K 0237585 UTM 7808141	3306
	M038-PT-T	Tumúsla	Potosí	20K 0225929 UTM 7739838	2635
	M039-PT-CTG	Cotagaita*	Potosí	20K 0223345 UTM 7696145	2657
	M040-PT-TPZ	Tupiza	Potosí	20K 0218326 UTM 7627048	2951
	M041-CH-IH	Incahuasi	Chuquisaca	20K 0305724 UTM 7701593	2926
	M042-CH-CP	Culpina	Chuquisaca	20K 0297854 UTM 7696233	2977
	M036-LP-Q	Quime	La Paz	19K 0690255 UTM 8122203	2985
Bosque seco interandino	M001-SC-VG	Vallegrande	Santa Cruz	18°29'12,17''S 64°06'27,41''W	2032
	M011-CH-S	Sucre*	Chuquisaca	19°02'52,3''S 65°15'34,53''W	2751
	M028-Cbba-A	Aiquile	Cochabamba	18°12'27,8"S 65°11'02,7"W	2250
	M045-Cbba-MQ	Mizque	Cochabamba	20K 0252142 UTM 8015117	2027
	M033-LP-AP	Apolo	La Paz	19L 0562943 UTM 8373364	1556
Bosque Boliviano-Tucumano	M002-CH-P	Padilla	Chuquisaca	19°18'28,08''S 64°18'09,38''W	2112
	M003-CH-MA	Monteagudo	Chuquisaca	19°48'11,34''S 63°57'22,04''W	1119
	M004-CH-H	Huacareta	Chuquisaca	20°22'04''S 64°00'11''W	1120
	M008-TJ-ER	Entre Ríos	Tarija	21°31'32,91''S 64°10'18,75''W	1219
	M043-TJ-T	Timboy	Tarija	21°10'04,9"S 64°04'01,4"W	1289

Región	Código	Localidad/ Municipio	Departamento	Ubicación Geográfica	Altura m.s.n.m.
Yungas	M012-LP-SA	Santa Ana	La Paz	19K 0621880 UTM 8208050	1618
	M013-LP-M	Mururata	La Paz	19K 0635053 UTM 8215010	1415
	M014-LP-Ch	Cholla	La Paz	19K 0639584 UTM 8220706	1062
	M015-LP-Ch	Choro	La Paz	19K 0646646 UTM 8227284	993
	M016-LP-C	Coripata	La Paz	16°18'47,7"S 67°36'16,8"W	1750
	M017-LP-Ch	Chonta	La Paz	16°17'12.2"S 67°49'41.7"W	1243
	M018-LP-C	Coroico	La Paz	16°11'00"S 67°44'00"W	1782
	M019-LP-P	Pacallo	La Paz	19L 0629313 UTM 8208427	1134
	M020-LP-Ch	Chama*	La Paz	15°32'48,9"S 67°18'24,9"W	1367
	M024-LP-S	Sapecho	La Paz	19L 0678932 UTM 8279811	414
	M025-LP-C	Caranavi	La Paz	15°49'0" S 67°33'0" W	977
	M032-LP-CMT	Camata	La Paz	19L 0526316 UTM 8314845	2072
	M034-LP-MPR	Mapiri	La Paz	19L 0582164 UTM 8307377	611
	M035-LP-VE	Villa Exaltación	La Paz	19L 0664208 UTM 8256852	853
Bosque Amazónico sub- andino	M021-LP-M	Marimon	La Paz	19L 0688269 UTM 8283150	1106
	M022-LP-I	Inicua	La paz	19L 0691557 UTM 8286314	500
	M023-LP-S	Sillar	La Paz	19L 0688109 UTM 8293251	1154
	M030-LP-SBA	San Buenaventura*	La Paz	14°27'39,0"S 67°35'03,7"W	638
	M031-LP-I	Ixiamas*	La Paz	13°46'12,6"S 68°07'27,4"W	310
Chaco	M005-SC-C	Camiri	Santa Cruz	20°02'21,6''S 63°31'12,98''W	930
	M006-CH-M	Macharetí	Chuquisaca	20°48'56,87''S 63°21'28,81''W	652
	M007-TJ-Y	Yacuiba*	Tarija	21°15'40,68''S 63°28'02,55''W	595

Región	Código	Localidad/ Municipio	Departamento	Ubicación Geográfica	Altura m.s.n.m.
	M029-CH-M	Muyupampa	Chuquisaca	19°53'47,1"S 63°44'55,3"W	1200
	M026-TJ-VM	Villa Montes	Tarija	21°15'42,5"S 63°27'04,1"W	388

\*más de 6 meses desde la cosecha hasta la colecta

## 4.2. Determinación de la capacidad antioxidante total (TAC)

### 4.2.1. Método ABTS

El radical ABTS<sup>•+</sup> se obtiene tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,42 mmol) incubados a temperatura ambiente y en la oscuridad por 12 - 16 h. El reactivo se mantiene estable por 2 a 3 días almacenada en la oscuridad. El día de análisis el radical ABTS<sup>•+</sup> se diluye con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendida entre 0,70 ( $\pm$  0,02) a 734 nm. Después de la adición de 1,0 mL de la solución ABTS<sup>•+</sup> a 100  $\mu$ L de solución de miel (50 % m/v), se homogeniza durante 30 s y se registra la absorbancia por 6 min. La disminución de la coloración se expresa como el porcentaje de inhibición de ABTS, la cual es comparada con una curva estándar del antioxidante sintético de referencia, trolox (20 - 200  $\mu$ mol/L). Los resultados se expresan como  $\mu$ mol de trolox equivalente por gramo de muestra fresca (Vit, 2008; Peñarrieta, 2009; Re, 1999).

Las lecturas del ensayo se realizan en tres días diferentes, cada día se realizan lecturas por triplicado; y se prepara la curva de calibración por día de trabajo.

### 4.2.2. Método FRAP

El complejo amarillo de Fe<sup>3+</sup>-TPTZ se reduce al complejo azul de Fe<sup>2+</sup>-TPTZ por medio de donaciones de electrones bajo condiciones ácidas. El reactivo FRAP es una mezcla de 0,1 mol/L Tampón de acetato sódico (pH 3,6), TPTZ 10 mmol/L y cloruro férrico 20 mmol/L (10:1:1, v/v/v), una vez mezclados; 900  $\mu$ l de reactivo, 90  $\mu$ l de agua y 30  $\mu$ l de solución de miel (30 % m/V) se realizan las lecturas de absorbancia a 593 nm por 10 min. La absorbancia final de cada muestra se compara con la curva estándar de Trolox (100 - 1000  $\mu$ mol/L). Los datos son expresados como  $\mu$ mol equivalentes de Trolox por gramo de muestra fresca (Peñarrieta, 2009; Benzie, 1996).

Las lecturas del ensayo se realizan en tres días diferentes, cada día se realizan lecturas por triplicado; y se prepara la curva de calibración por día de trabajo.

### **4.2.3. Método ORAC**

En análisis ORAC los radicales libres se producen por 2, dihidrocloruro 2'-diazobis (2-amidinopropano) (AAPH) y la fluoresceína que luego se oxida. Todos los reactivos fueron preparados en 10 mmol/L, tampón fosfato pH 7,4, usando Trolox (ácido 6- hidroxí-2,5,7,8-tetrametetilcroman-2-carboxílico) (75 mM) como estándar. Las muestras de la miel fueron disueltas convenientemente en el tampón fosfato. Las mezclas de reacción consistieron en 150 µL de fluoresceína y 25 µL de muestra, pre-incubado por 15 min en 37 °C, 60 µL y posteriormente se adicionan 25 µL de AAPH (160 mM). Una vez que el AAPH fuera agregado, la placa fue agitada automáticamente durante 3 s, y la fluorescencia fue medida cada 1 min por 120 min con longitudes de onda de excitación y emisión de 485 y 520 nm, respectivamente (Muños, 2017).

Las lecturas del ensayo se realizan en tres días diferentes, cada día se realizan lecturas por triplicado; y se prepara la curva de calibración por día de trabajo.

### **4.2.4. Determinación de del contenido de Fenoles Totales**

#### **Método Fenoles Totales**

El reactivo de Folin-Ciocalteu oxida los compuestos fenólicos a fenolatos a pH alcalino en una solución saturada de carbonato sódico que da como resultado un complejo de azul de molibdeno-tungsteno. El reactivo Folin-Ciocalteu es diluido diez veces (2,5 ml) y 2 ml de carbonato de sodio saturado (75 g/L) y 50 µL de solución de miel (10 % m/v), se mezcla durante 10 s y se calienta durante 30 min a 45 °C (Singleton, 1965; Spanos, 1990).

Se lee la absorbancia a 765 nm después de enfriar a temperatura ambiente. Se compara la absorbancia de cada muestra con la curva estándar de ácido gálico (40 - 200 mg/L). Los datos se expresaron como mmol equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de materia fresca (Ciappini, 2013; Peñarrieta, 2009).

Las lecturas del ensayo se realizan en tres días diferentes, cada día se realizan lecturas por triplicado; y se prepara la curva de calibración por día de trabajo.

### 4.3. Determinación de parámetros fisicoquímicos

#### 4.3.1. Determinación de cenizas

Se pesa por duplicado de 5 a 10 g de muestra de miel en cápsulas crisol previamente calcinadas y taradas. Calentar suavemente hasta carbonizar la muestra, para impedir la formación de espuma se realiza una rampa de calentamiento; y se mantener el crisol con la muestra en la mufla a 550 °C durante toda la noche, y al día siguiente se saca de la mufla y se lleva a temperatura ambiente en un desecador, hasta que la diferencia entre dos pesadas consecutivas efectuadas a intervalos de 30 min fuera inferior a 1mg (NB 38025, 2014). Se realiza lecturas por triplicado para cada muestra.

El contenido en cenizas expresado en porcentaje (p/p), se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{P1-P2}{P-P2} \times 100$$

Dónde:

P (g): crisol con la muestra

P1 (g): crisol con las cenizas

P2 (g): crisol vacío

Los resultados son expresados en %.

#### 4.3.2. Determinación de acidez libre, acidez láctica y acidez total

En un vaso de precipitados se disuelven 10 g de miel en 75 ml de agua destilada exenta de dióxido de carbono, determinando a continuación su pH. Se titula con una solución de hidróxido de sodio 0,05 N hasta obtener un pH de 8,5. La valoración debe realizarse por goteo a una velocidad de 5 ml por minuto. Tan pronto alcanza dicho pH, se añaden 10 ml de la misma solución de hidróxido de sodio 0,05 N e inmediatamente se procede a una nueva titulación con ácido clorhídrico 0,05 N, a la misma velocidad, hasta alcanzar un pH de 8,3. Este método se basa en que las lactonas presentes en la miel originan ácidos cuando esta se alcaliniza, constituyendo una reserva potencial de acidez (NB 38025, 2014; NOM, 2004). Se realiza lecturas por triplicado para cada muestra.

Los cálculos se realizan utilizando las siguientes fórmulas:

$$\text{Acidez libre (meq/kg)} = \frac{(Vb - Vo) \times Nb \times 1000}{P}$$

$$\text{Acidez lactónica (meq/kg)} = \frac{(10N_b - V_a N_a) \times 1000}{P}$$

Acidez Total = Acidez libre + Acidez lactónica

Dónde:

V<sub>b</sub> (mL): base consumida hasta alcanzar pH de 8,50.

V<sub>o</sub> (mL): base consumida por 75 ml de agua destilada hasta alcanzar pH de 8,50.

V<sub>a</sub> (mL): ácido gastado en la valoración por retroceso hasta alcanzar pH 8,30

N<sub>b</sub>: normalidad de la base

N<sub>a</sub>: normalidad del ácido

P (g): muestra.

Los resultados son expresados en meq/kg.

#### **4.3.3. Determinación de humedad**

Este método se basa en el cambio de dirección que sufren los rayos luminosos en el límite de la separación de dos medios, en los cuales es distinta la velocidad de propagación. Para esta determinación se usa el refractómetro en una posición tal que difunda la luz natural o cualquier otra forma de luz artificial, que pueda utilizarse para iluminación.

Hacer circular agua a 20°C a través de los prismas. Limpiar cuidadosamente con alcohol antes de hacer la lectura. Verificar la exactitud de refractómetro con agua a 293 K (20°C), a esta temperatura, el índice de refracción del agua es de 1,3330; mover el brazo giratorio del aparato hacia delante y hacia atrás hasta que el campo visual se divida en dos partes, una luminosa y otra oscura. La línea divisoria entre esas dos partes, se le conoce como "línea margen". Ajustar la línea margen y leer directamente; usar la tabla del anexo A para sus equivalencias de humedad. (NOM, 2004). Se realiza lecturas por triplicado para cada muestra.

#### **4.3.4. Determinación de pH**

El valor de pH se determina mediante lectura directa introduciendo el electrodo combinado del pH-metro. Para ello se homogeneiza una solución de miel al 20 % (m/v) 10 g de miel en 50 ml de agua destilada. Antes de cada lectura se calibra el equipo con las soluciones buffer de pH 7, pH 4 y pH 10 (NB 38028, 2014). Se realizan lecturas por triplicado para cada muestra.

#### 4.3.5. Determinación de sólidos insolubles

Se pesan 20 g de la muestra de miel, se disuelve con 50 ml de agua destilada, se filtra la disolución a través de un papel de filtro Whatman, se trasvasa cuantitativamente todo el material sólido al papel de filtro y se lava abundantemente con agua destilada caliente a 80 °C. El papel de filtro con el residuo lavado se seca en una estufa de secado durante 1 h a 135 °C y después de enfriar en un desecador se pesa con aproximación de 0,1 mg (NB 38029, 2014). Se realiza lecturas por triplicado para cada muestra.

$$\% \text{ Sólidos Insolubles} = \frac{\text{Peso sólidos Insolubles}}{\text{g de muestra}} \times 100$$

#### 4.3.6. Determinación de conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica se mide según (Zandamela, 2008) usando un conductivímetro. La determinación se basa en la medición de la resistencia eléctrica, siendo la conductividad el valor recíproco de la resistividad.

Se pesan 20 g de miel en agua desionizada y se trasvasan a un matraz aforado de 100 ml completando el volumen con agua desionizada. Las determinaciones deben ser realizadas por duplicado (NB 38036, 2014).

Aproximadamente 75 ml de la solución se depositan en un vaso de precipitado, colocado en un baño de agua a  $20 \pm 0,5$  °C. Con el resto de la solución se enjuagan cuidadosamente los electrodos de conductividad, inmediatamente, se sumergen los electrodos conectados al medidor de conductividad, en la solución y separados entre sí por una distancia de 1cm hasta que la temperatura se equilibre. La lectura del valor de la conductancia de la solución es en mS. Se realizan lecturas por triplicado para cada muestra.

#### 4.3.7. Determinación del color

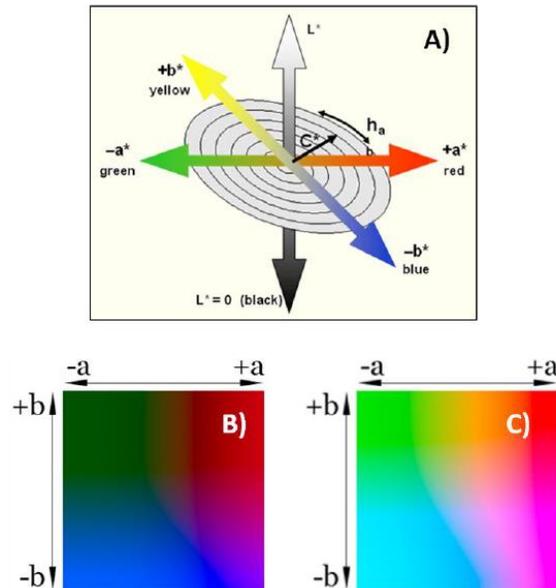
La determinación de color se realiza de manera directa al utilizar un fotocolorímetro  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  para este usar 5 g de muestra fresca de miel (Zandamela, 2008). Para la determinación de color se tomaron 5 g de muestra fresca y se utilizó un equipo colorímetro KONICA MINOLTA Chroma Meter CR 400, Se realiza lecturas por triplicado para cada muestra. Los valores del espacio de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y parámetros se calcula en base de las siguientes ecuaciones, a partir de los valores triestímulo obtenidos en:

$$L^* = 116(Y/Y_n)^{1/3} - 16$$

$$a^* = 500(X/X_n)^{1/3}$$

$$b^* = 200$$

Siendo  $L^*$  la luminosidad o claridad,  $a^*$  el valor rojo si es  $a > 0$  o verde si esa  $< 0$  y  $b^*$  el valor amarillo si es  $b > 0$  o azul para  $b < 0$ .



#### 4.3.8. Determinación de actividad de agua

La actividad de agua se mide a temperatura constante de 25 °C, mediante un analizador automático higrómetro ROTRONIC HYGROPAL. Se introduce una muestra de aproximadamente 5 g en una cápsula y se van realizando medidas a lo largo del tiempo, hasta llegar a un valor constante. El valor constante que marca el equipo es el valor de la actividad de agua (Zandamela, 2008). Se realiza lecturas por triplicado para cada muestra.

#### 4.4. Determinación de frescura de la miel

##### 4.4.1. Determinación de hidroximetilfurfural

Se pesa 5 g de miel con aproximación de 0,1 mg en un vaso de precipitados y disolverlos con 25 ml de agua destilada, transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 ml.

Adicionar 0,5 ml de solución de Carrez I a la muestra y mezclar.

Agregar 0,5 ml de solución de Carrez II a la muestra y aforar a volumen con agua.

Adicionar una gota de alcohol etílico en caso de que se produzca espuma, filtrar a través de papel filtro, descartar los primeros 10 ml del filtrado.

Tomar una alícuota de 5,0 ml del filtrado en cada uno de dos tubos de ensayo de 18 X 150 mm. Aproximadamente.

Adicionar 5,0 ml de agua destilada en uno de los tubos (muestra) y 5,0 ml de la solución de referencia de bisulfito de sodio (referencia), mezclar y determinar la absorbancia de la muestra a 284 y a 336 nm en celdas de cuarzo de 1 cm de paso de luz.

Si la muestra da una absorbancia mayor de 0,6 diluir la muestra con agua y la solución de referencia con una solución  $\text{NaHSO}_3$  al 0,1 % (en la misma proporción) y corregir el valor de absorbancia por dilución. (NB 38031, 2014; NOM, 2004). Se realiza lecturas por triplicado para cada muestra.

Se calcula el contenido de HMF a partir de la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{mg HMF}}{100 \text{ g miel}} = \frac{(\text{Abs a } 284 \text{ nm} - \text{Abs a } 336 \text{ nm}) \times 14,97 \times 5}{\text{muestra}}$$

#### **4.4.2. Determinación de actividad de diastasa**

##### **Preparación de las muestras**

Solución de miel: se pesa 10,0 g de miel en un vaso de precipitados de 50 ml, se adiciona 5,0 ml de solución de amortiguadora de acetato y 20 ml de agua destilada para disolver la muestra. Disolver completamente la muestra agitando la solución fría.

Adicionar 3,0 ml de solución de cloruro de sodio en un matraz aforado de 50 ml, pasara este matraz la muestra de miel disuelta y completar el volumen hasta 50 ml.

Es esencial que la miel haya sido mezclada con la solución amortiguadora antes de entrar en contacto con el cloruro de sodio.

## **Normalización del almidón**

Se calienta la solución de almidón a 40 °C y con una pipeta adicionar 5 ml de solución de almidón en 10 ml de agua a 40 °C, mezclar bien. Mediante una pipeta, verter 1,0 de esta última solución en 10 ml de solución de yodo 0,0007 N, diluida con 35 ml de agua y mezclar bien. Leer la absorbancia a 600 nm contra un testigo de agua, utilizando una celda de vidrio de 1 cm. La absorbancia debe ser de 0,760 ± 0,020. En caso necesario, ajustar el volumen de agua añadido hasta la absorbancia exacta.

## **Determinación de la actividad de diastasa**

Mediante una pipeta, se debe verter 10 ml de solución de miel en una probeta graduada de 50 ml y colocar ésta en un baño de agua a 40 ± 2 °C, justo con el matraz que contiene la solución de almidón. Transcurridos 15 minutos, adicionar con una pipeta 5,0 ml de solución de almidón en la solución de miel, mezclar y poner en marcha un cronómetro.

A intervalos de 5 minutos, tomar porciones de 1,0 ml y adicionarlas con 10 ml de solución de yodo 0,0007 N. Mezclar y diluir hasta volumen normalizado. Determinar inmediatamente la absorbancia a 600 nm en el espectrofotómetro, empleando una celda de 1 cm.

Seguir tomando porciones de 1,0 ml a intervalos hasta lograr una absorbancia menor de 0,235. Se realiza lecturas por triplicado para cada muestra.

Cálculos y expresión de los resultados:

Representar gráficamente la absorbancia en función del tiempo (minutos) sobre un papel cuadriculado. Trazar una línea recta que una por lo menos los tres últimos puntos de la gráfica, para determinar el momento en que la mezcla de reacción alcanza la absorbancia de 0,235. Dividir 300 por el tiempo en minutos para obtener el índice de diastasa (ID). Este índice expresa la actividad de la diastasa en mililitros de solución al 1 por ciento hidrolizada por la enzima contenida en 1 g de miel, en 1 hora, a 40 °C. Este índice de diastasa corresponde al índice de la escala de Gothe.

Actividad de la diastasa = ml de solución de almidón (1 %) /g de miel/hora a 40 °C. (NB 38032, 2014; NOM, 2004).

## **4.5. Materiales y equipos**

### **4.5.1. Muestras de miel**

Las muestras de miel de abeja para todos los análisis son colectadas de apiarios de seis diferentes regiones de Bolivia y almacenadas en el laboratorio de alimentos del Instituto de Investigaciones Químicas (IIQ).

### **4.5.2. Reactivos**

Se utiliza reactivos de grado analítico de diferentes marcas:

Hidróxido de sodio, Merck

Ácido clorhídrico, Merck

Fenolftaleína, Sigma-Aldrich

Naranja de metilo, Sigma-Aldrich

Agua destilada

Agua desionizada

Ferrocianuro de potasio, Merck

Acetato de zinc, Merck

Bisulfito de sodio, Sigma-Aldrich

Cloruro de Sodio, Merck

Ácido acético glacial, Merck

Acetato de sodio, Merck

Yoduro de potasio, Sigma-Aldrich

Almidón anhidro, Merck

Yodo sublimado, Sigma-Aldrich

Fosfato hidrógeno di-sodio, Sigma-Aldrich

Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, Sigma-Aldrich

Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico), Sigma-Aldrich

Persulfato de potasio, Merck

Alcohol etílico, Merck

2,2-difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil)-hidrazilo), Sigma-Aldrich

2,4,6-tripiridil-s-triazina, Sigma-Aldrich

Cloruro férrico, Sigma-Aldrich

Ácido gálico, Sigma-Aldrich

Reactivo fenólico de Folin-Ciocalteu, Sigma-Aldrich

Carbonato de Sodio, Merck

### **4.5.3. Equipos e instrumentos**

Espectrofotómetro UV – Vis, Perkin Elmer

Lector multiplicas BIOTEC

Incubadora Ecocell  
Agitador magnético con calentador  
Vortex  
pH metro Mettler Toledo  
Estufa de secado Binder  
Kit de micro pipetas Thermo Scientific  
Centrifugadora Eppendorf  
Mufla Thermo Scientific  
Refractómetro portátil  
Bomba de vacío  
Sistema de filtrado  
Conductímetro Mettler Toledo  
Fotocolorímetro Konica  
Analizador de actividad de agua Rotronic  
Baño maría con agitación Labwit  
Termómetro  
Cronometro  
Balanza Analítica Mettler Toledo  
Campana de extracción

#### **4.6. Análisis y tratamiento estadístico**

Se emplean paquetes estadísticos como XLSTAT y análisis de datos de EXCEL.

##### **4.6.1. Análisis de componentes principales**

El análisis de componentes principales o análisis de factores, analiza si es posible representar adecuadamente la información con un número menor de variables construidas como combinaciones lineales de las originales. Su base se encuentra en los ajustes ortogonales por mínimos cuadrados. Su utilidad es doble:

a) Permite representar óptimamente en un espacio de dimensión pequeña, observaciones de un espacio general  $p$ -dimensional. En este sentido, los componentes principales es el primer paso para identificar las posibles variables latentes (no observadas) que generan los datos.

b) Permite transformar las variables originales, en general correlacionadas, en nuevas variables no correlacionadas, facilitando la interpretación de los datos.

Este método permite analizar datos en bruto o estandarizados, una matriz de correlación o una matriz de covarianza. El propósito de este análisis es reducir el

número de dimensiones de tal manera que se puedan visualizar fácilmente las variables, representando un alto porcentaje del conjunto de datos. Todo este procedimiento se realiza a través del análisis de la variancia y distancias entre las muestras, reducir el número de variables de un conjunto mayor, que son utilizadas en diferentes análisis o crear un conjunto completamente nuevo con menor número de variables para reemplazar parcial o completamente el conjunto original de variables (Zandamela, 2008).

#### **4.6.2. Análisis de conglomerados (clústers)**

El análisis de conglomerados (clúster) tiene por objeto agrupar elementos en grupos homogéneos en función de similitudes entre ellos. Normalmente se agrupan las observaciones, de tal manera que se acaban caracterizando los grupos a través de las variables.

##### **Construcción de jerarquías**

Se estructura los elementos de un conjunto de forma jerárquica por su similitud. Una clasificación jerárquica implica que los datos se ordenen por niveles, de manera que los niveles superiores contienen a los inferiores. Este método define la estructura de asociación en cadena que puede existir entre los diferentes elementos, pero la jerarquía construida permite obtener también una partición de los datos en grupos. Esta jerarquía queda representada en un Gráfico llamado dendograma.

El análisis de clústers identifica grupos jerárquicos de observaciones con características similares dentro de una gran cantidad de datos, agrupándolos a través del uso de diferentes métodos o algoritmos que analizan la distancia entre los clústers. También puede identificar y clasificar observaciones de modo que los puntos dentro de un clúster son parecidos entre sí. Si la clasificación es correcta, los puntos dentro de un clúster se encuentran cercanos entre sí, entonces son muestras parecidas, mientras los que se ubican en diferentes clústers, están más lejanos (ya que no tienen características similares) (Zandamela, 2008).

## CAPITULO V

### 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

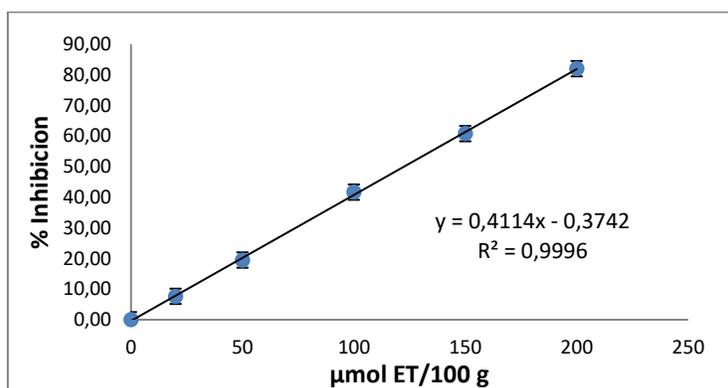
Un mayor detalle de los gráficos y tablas mostradas a continuación se hallan en la parte de anexos.

#### 5.1. Determinación de la capacidad antioxidante

##### 5.1.2. Método ABTS

En el Gráfico 1 se observa la curva de calibración usada para determinar la capacidad antioxidante por el método ABTS.

Gráfico 1: Curva de Calibración ABTS



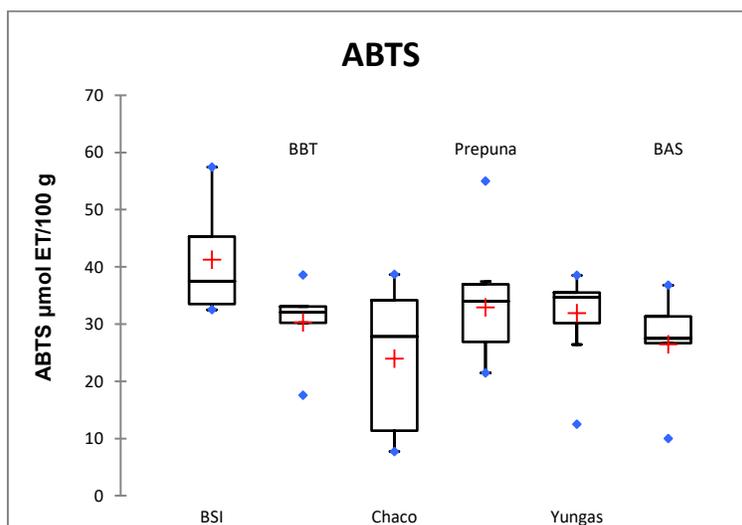
Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 9.

Tabla 9: Método ABTS (μmol ET/100 g) en mieles de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Desviación estándar	Rango	
Bosque seco interandino (BSI)	5	41,25	2,18	32,49	57,44
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	30,29	1,78	17,50	38,58
Chaco	5	23,94	1,28	7,70	38,65
Prepuna	11	32,87	1,62	21,45	54,96
Yungas	14	31,87	1,92	12,46	38,51
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	26,44	1,01	9,96	36,79

Los valores de la determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS muestran similitud para cinco regiones: Bosque Boliviano tucumano, Prepuna, yungas, BAS y el chaco (con una mayor variabilidad) presentan similitud entre sí; y la región de los Bosques Secos Interandinos (BSI) es diferente al grupo anterior, con un valor<sub>min</sub> de  $32,49 \pm 0,50 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$  (Sucre), un valor<sub>max</sub> de  $57,44 \pm 3,10 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$  (Aiquile) y una mediana de  $37,53 \pm 0,34 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$  (Mizque); se puede decir que en los cuartiles Q2 y Q3 son los que presentan los valores más altos para este parámetro.

Gráfico 2: Diagrama de caja y bigote método ABTS

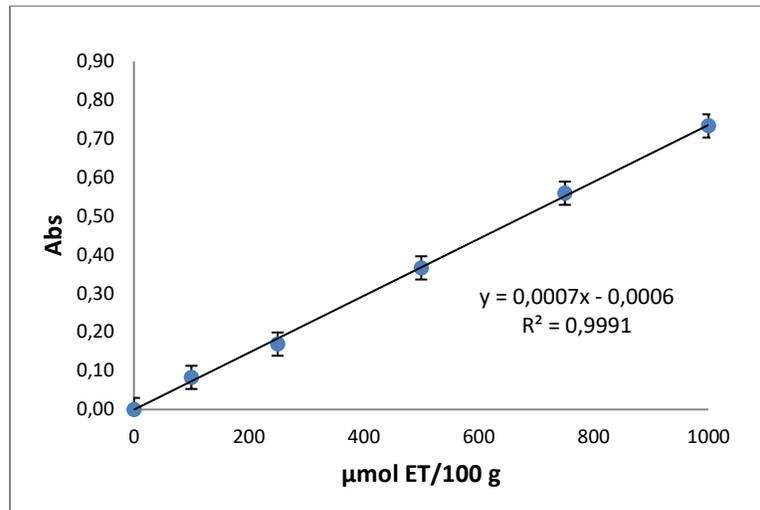


Los valores más bajos según el Gráfico 2 del diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región del Chaco con un valor<sub>min</sub> de  $7,70 \pm 0,68 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$  (Muyupampa), un valor<sub>max</sub> de  $38,65 \pm 0,75 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$  (Yacuiba) y una mediana de  $27,81 \pm 2,70 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$  (Villa Montes).

### 5.1.3. Método FRAP

En el Gráfico 3 se observa la curva de calibración usada para determinar la capacidad antioxidante por el método FRAP.

Gráfico 3: Curva de Calibración FRAP



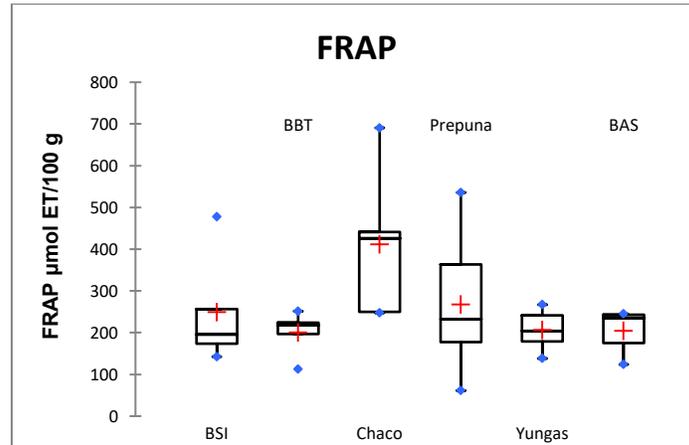
Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10: Método FRAP (μmol ET/100 g) en mieles de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Desviación estándar	Rango	
Bosque seco interandino (BSI)	5	249,17	15,75	142,62	477,96
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	200,47	13,57	112,52	251,41
Chaco	5	411,11	23,63	247,54	690,68
Prepuna	11	267,55	16,58	61,27	535,80
Yungas	14	206,22	14,22	138,20	267,09
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	204,43	16,78	123,90	245,10

Los valores determinados de la capacidad antioxidante por el método FRAP muestran similitud para cinco regiones: Bosque Boliviano Tucumano, yungas, bosque amazónico sub-andino, bosque seco interandino y la Prepuna (presenta una gran variabilidad); la región del Chaco es diferente a las demás regiones presentado un valor<sub>min</sub> de  $247,54 \pm 4,96$  μmol ET/100g (Yacuiba), un valor<sub>max</sub> de  $690,68 \pm 33,33$  μmol ET/100g (Machareti) y una mediana de  $426,24 \pm 42,58$  μmol ET/100g (Muyupampa); en los cuartiles Q2 y Q3 se presentan los valores más altos.

Gráfico 4: Diagrama de caja y bigote método FRAP

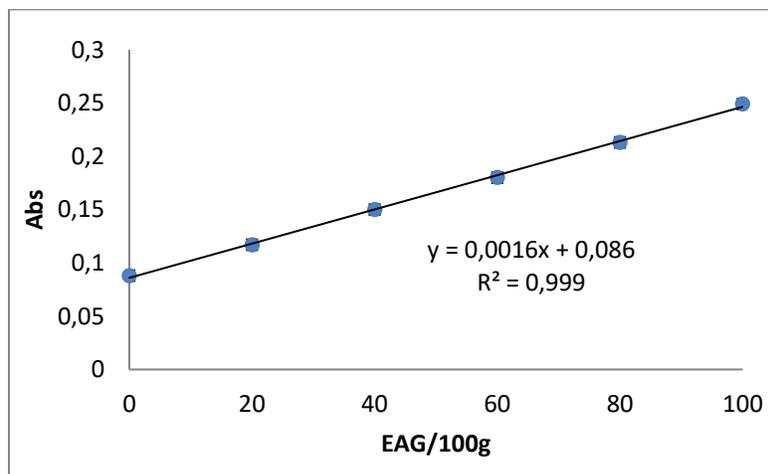


Los valores más bajos según el Gráfico 4 del diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región del bosque boliviano tucumano con un valor<sub>min</sub> de  $7112,52 \pm 3,41 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$  (Timboy), un valor<sub>max</sub> de  $251,41 \pm 21,00 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$  (Huacareta) y una mediana de  $217,56 \pm 6,11 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$  (Entre Ríos).

#### 5.1.4. Método Fenoles Totales

En el Gráfico 5 se observa la curva de calibración usada para determinar el valor de fenoles totales en miel de abeja.

Gráfico 5: Curva de Calibración TPC



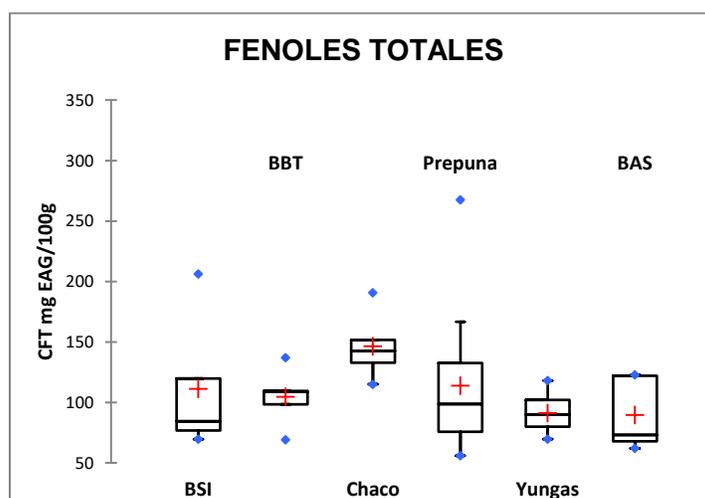
Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 11:

Tabla 11: Método TPC (EAG/100g) en mieles de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Desviación estándar	Rango	
<b>Bosque seco interandino (BSI)</b>	5	111,34	8,48	69,62	206,29
<b>Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)</b>	5	104,57	7,91	69,11	136,99
<b>Chaco</b>	5	146,55	11,43	115,04	190,56
<b>Prepuna</b>	11	113,98	7,79	55,86	267,51
<b>Yungas</b>	14	91,21	6,15	69,67	118,04
<b>Bosque amazónico sub-andino (BAS)</b>	5	89,53	6,82	61,94	122,80

Los valores de la determinación de Fenoles Totales muestran similitud con las regiones: Bosque Boliviano Tucumano, yungas, bosque amazónico sub-andino, bosque seco interandino y la Prepuna (presenta la una gran variabilidad); la región del Chaco es diferente a las demás regiones presentado un valor<sub>min</sub> de 115,04 ± 8,57 mg EAG/100g (Villa Montes), un valor<sub>max</sub> de 190,56 ± 19,80 mg EAG/100g (Camiri) y una mediana de 142,58 ± 4,17 mg EAG/100g (Yacuiba); en los cuartiles Q2 y Q3 se presentan los valores más altos, pero el mayor valor registrado es de 267,51 mg EAG/100g en la localidad de Villa Abecia.

Gráfico 6: Diagrama de caja y bigote método FRAP

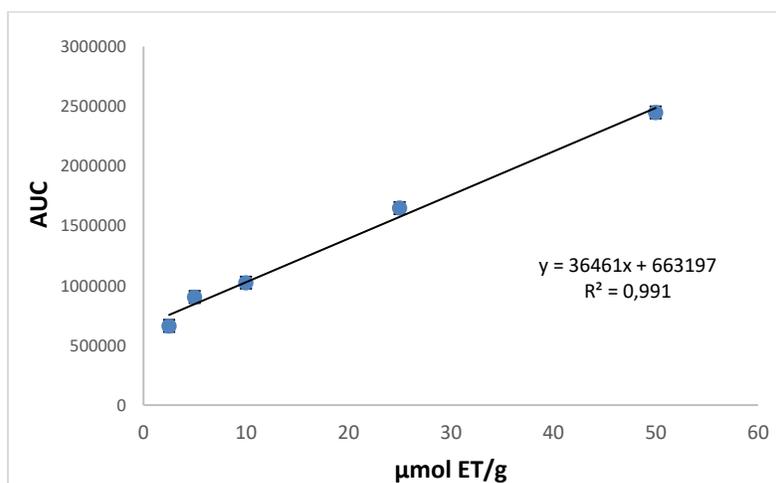


Los valores más bajos según el Gráfico 6 del diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región del bosque amazónico sub-andino con un valor<sub>min</sub> de 61,94 ± 1,09 μmol ET/100g (Sillar), un valor<sub>max</sub> de 122,80 ± 9,69 μmol ET/100g (Ixiamas) y una mediana de 73,07 ± 7,60 μmol ET/100g (Marimon).

### 5.1.5. Método ORAC

En el Gráfico 7 se observa la curva de calibración usada para determinar el valor de capacidad antioxidantes por el método ORAC.

Gráfico 7: Curva de Calibración ORAC



Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 12.

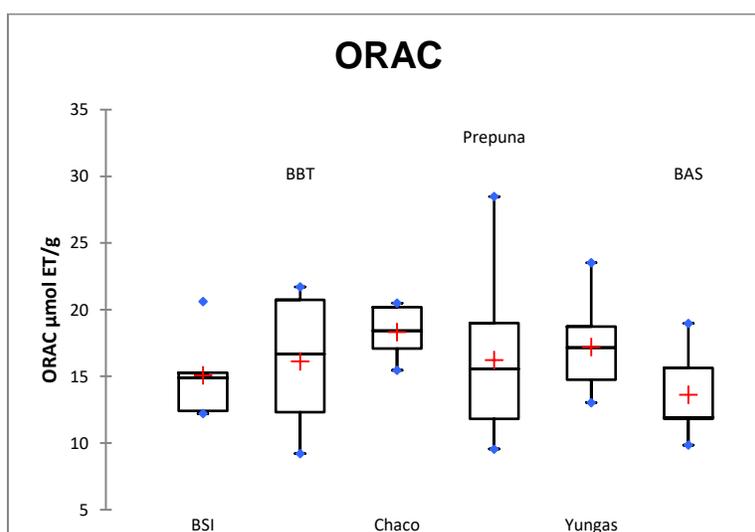
Tabla 12: Método ORAC (μmol ET/g) en mieles de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Desviación estándar	Rango	
Bosque seco interandino (BSI)	5	15,08	3,40	12,21	20,62
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	16,13	5,36	9,21	21,71
Chaco	5	18,33	2,11	15,46	20,50
Prepuna	11	16,24	5,40	9,56	28,48
Yungas	14	17,22	3,40	13,04	23,52
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	13,64	3,64	9,85	18,98

Los valores en la determinación de la capacidad antioxidante por el método ORAC muestran similitud en todas las regiones, las regiones de la Prepuna y Bosque Boliviano-Tucumano (BBT) presentan las mayores variabilidades.

La región del Chaco presenta una menor variabilidad con un valor<sub>min</sub> de 15,46  $\mu\text{mol ET/g}$  (Villa Montes), un valor<sub>max</sub> de 20,50  $\text{mg } \mu\text{mol ET/g}$  (Camiri) y una mediana de 18,43  $\mu\text{mol ET/g}$  (Muyupampa); pero el mayor valor registrado es de 28,48  $\mu\text{mol ET/g}$  corresponde a la localidad de Tumúsila.

Gráfico 8: Diagrama de caja y bigote método ORAC

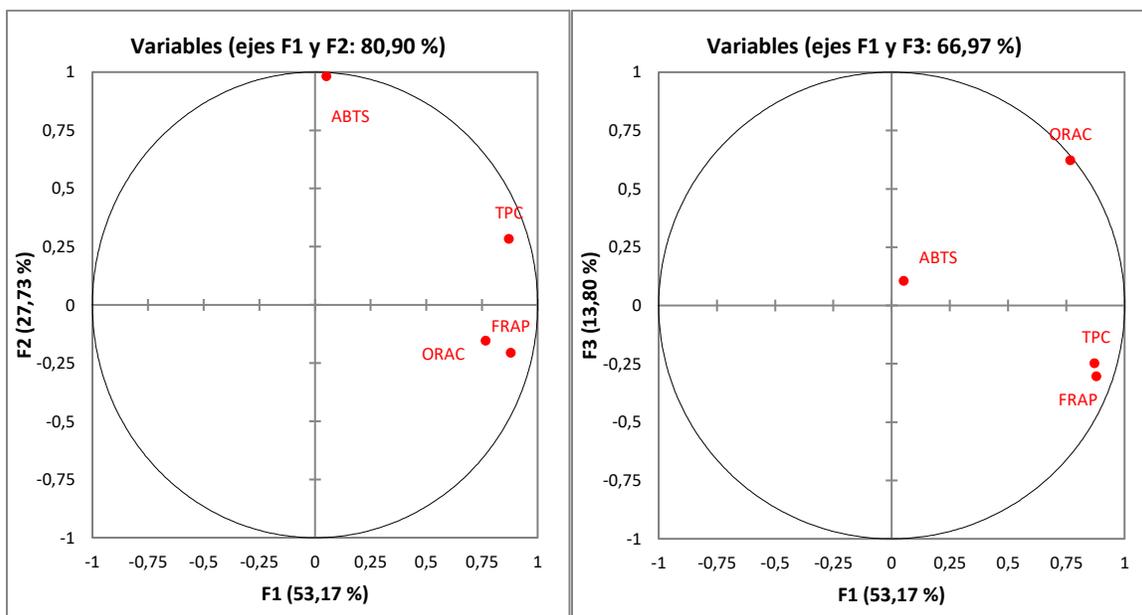


Los valores más bajos según el Gráfico 8 del diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región del bosque amazónico sub-andino con un valor<sub>min</sub> de 9,85  $\mu\text{mol ET/g}$  (Marimon), un valor<sub>max</sub> de 18,98  $\mu\text{mol ET/g}$  (Ixiamas) y una mediana de 13,74  $\mu\text{mol ET/g}$  (Sillar).

### 5.1.6. Análisis de correlación para los parámetros de antioxidantes

Para un buen análisis se trabaja con respecto a los factores F1 y F2 (con un acumulado del 80,9 %) y los factores de F1 y F3 (con un acumulado del 67 %) las cuales serán suficiente para una buena interpretación de los datos:

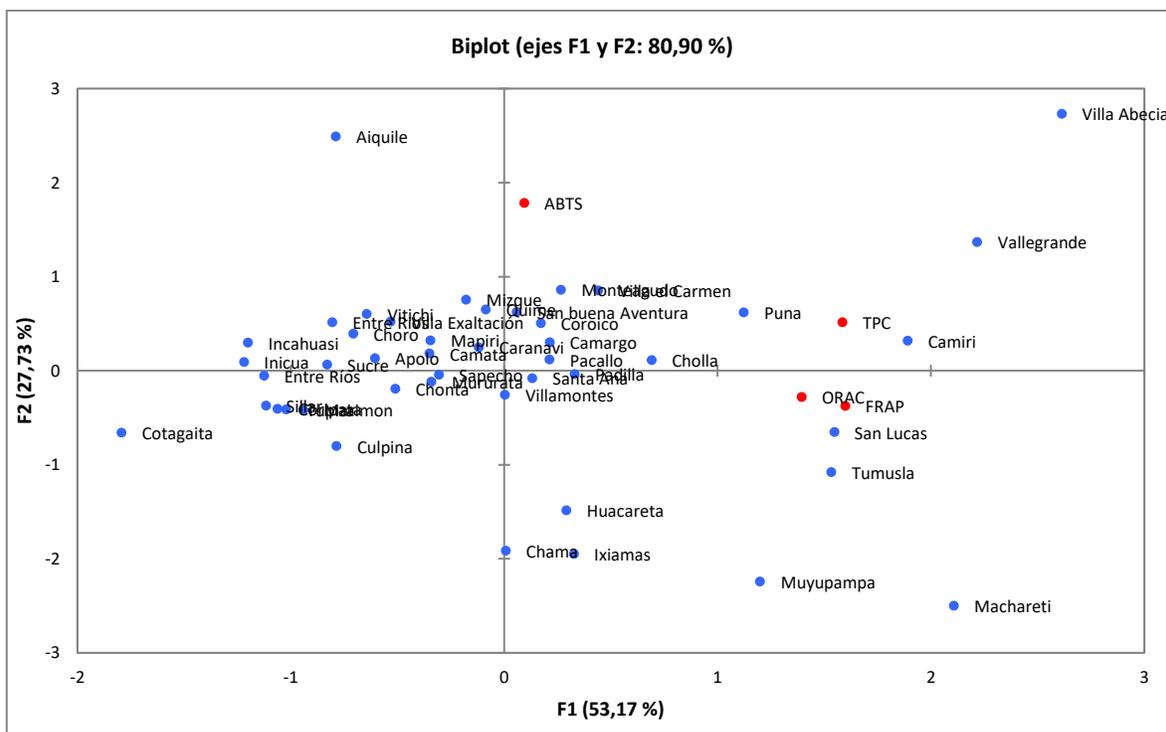
Gráfico 9: Circulo de correlaciones para Antioxidantes



Del Gráfico 9 se puede observar que los parámetros de FRAP y TPC presentan una correlación positiva importante (0,690), entre los parámetros de FRAP y ORAC existe una correlación media (0,517), en parámetros como ORAC y TPC existe también una correlación media (0,472) pero menor a la anterior y entre los parámetros de ABTS y TPC existe una baja correlación (0,250) y no existe correlación entre los parámetros FRAP y ABTS.

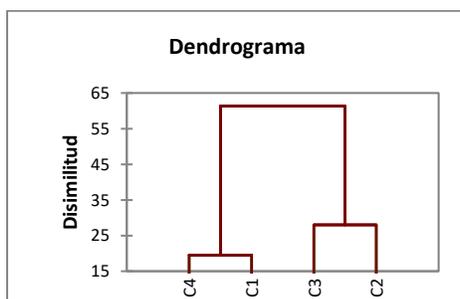
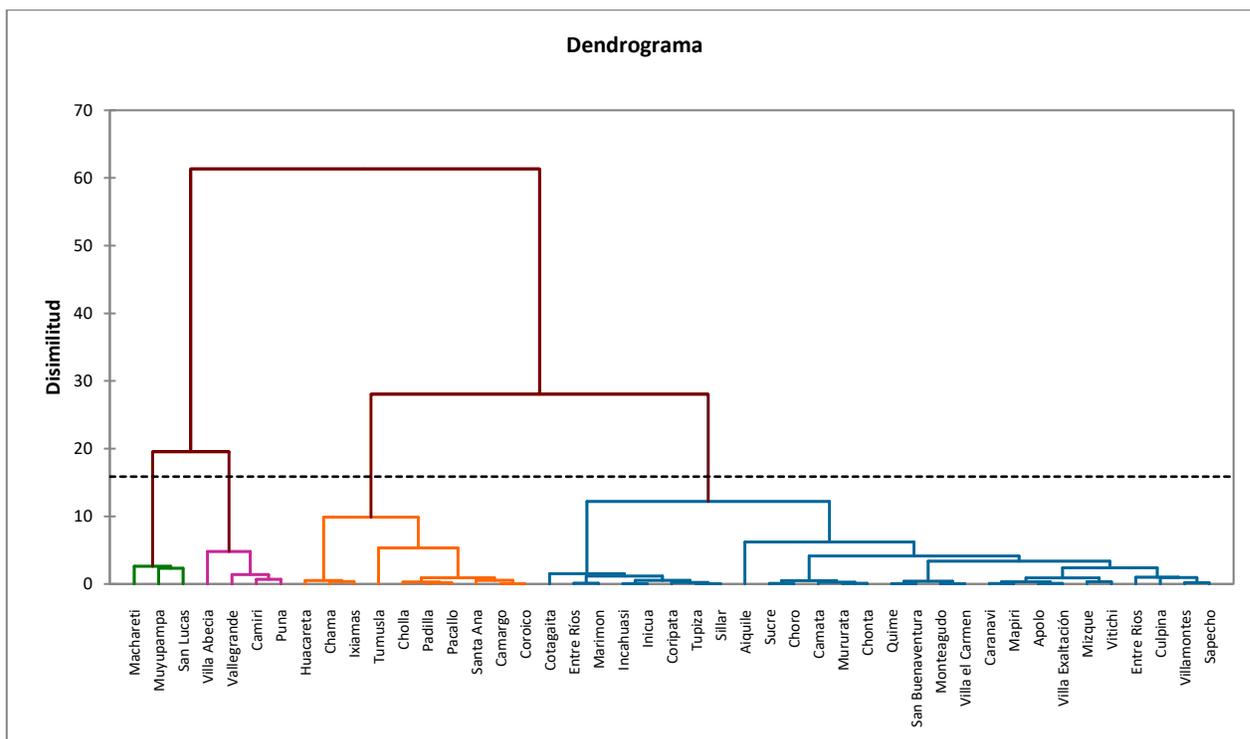
También se puede decir que el eje F1 tiene una vinculación muy alta con el parámetro TPC y FRAP, y un poco más baja con el parámetro ORAC; y el eje F2 tiene una completa vinculación con el parámetro ABTS.

Gráfico 10: Biplot de las regiones de muestreo



Del Gráfico 10 del biplot por regiones se puede decir que los valores de la mayoría de las localidades son muy semejantes para los parámetros de ABTS, FRAP, ORAC y TPC. Pero localidades como Villa Abecia, Vallegrande, Camiri, Machareti, Tumúsula y San Lucas tienen valores altos para fenoles TPC, FRAP y ORAC; y localidades como Aiquile, Chama, Villa Abecia e Ixiamas tienen valores que son altos para el método ABTS.

Gráfico 11: Dendrograma de antioxidantes



En el Gráfico 11 del dendrograma se puede observar una clara división de cuatro clases o clústers; el C1, C4 muestran las clases con los valores más altos con respecto a los parámetros de antioxidantes, C3 valores más altos al grupo grande pero no iguales a los anteriores y el C2 representa el grupo más grande con los valores medios y bajos.

### Discusión antioxidante

Los métodos usados para la determinación de antioxidantes reportaron resultados acordes a la región, para ABTS los valores obtenidos están comprendidos entre 7,70 a 57,44  $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$  semejantes al reporte dado para mieles peruanas (Alvares, 2013) entre 28,75 a 68,45  $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$ . Para FRAP, los valores están comprendidos entre 61,27 a 690,68  $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$  semejantes al reporte dado para

mieles argentinas (Muños, 2007) entre 60 a 730  $\mu$ moles ET/100g miel. Para ORAC se tienen valores de 9,21 a 28,48  $\mu$ mol ET/g que es semejante a los reportes de mieles chilenas entre 3,46 a 12,31  $\mu$ mol ET/g. El contenido de fenoles totales permite determinar compuestos que comprenden una posible capacidad donante de electrones (antioxidante), mostrando valores entre  $55,86 \pm 2,98$  y  $267,51 \pm 14,78$  mg EAG/100g superior al reporte de mieles chilenas (Vit, 2008) y semejante a las mieles checas (Vattuone, 2007) comprendidas entre 28,3 - 44,0 mg EAG/100g y 43,55 - 290,35 mg EAG/100g respectivamente.

Siendo los fenoles totales un grupo importante de los antioxidantes, la buena correlación entre ambos método FRAP y fenoles totales nos indica que el método más apto para la determinación de capacidad antioxidante en miel de abeja es el método FRAP; según los datos reportados por los métodos FRAP y ORAC que tienen una correlación intermedia, las localidades que presentan mayor capacidad antioxidante corresponden a la región del chaco.

## 5.2. Determinación de parámetros fisicoquímicos

### 5.2.1. Ceniza

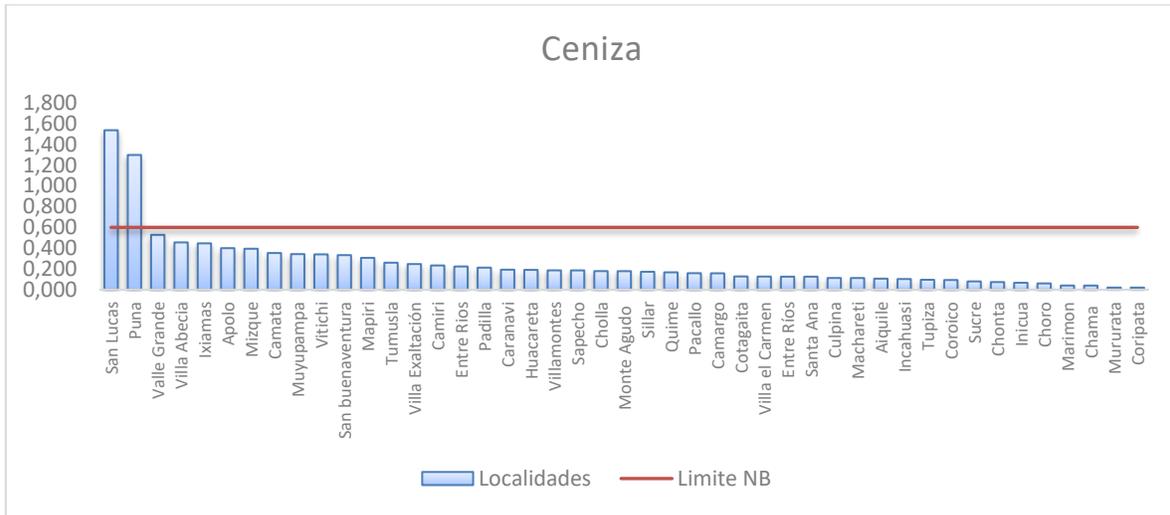
Los resultados obtenidos para el parámetro de Ceniza se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13: Ceniza (%) de miel de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Rango		Límite Permissible
Bosque seco interandino (BSI)	5	0,3010	0,0792	0,5281	Norma Boliviana: 0,6 %
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	0,1860	0,1249	0,2230	
Chaco	5	0,1998	0,1118	0,3424	
Prepuna	11	0,4226	0,0950	1,5364	
Yungas	14	0,1463	0,0198	0,3529	
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	0,2114	0,0398	0,4462	

Las seis regiones presentan una similitud entre los datos reportados, las regiones del Bosque amazónico sub-andino (BAS), bosque seco interandino (BSI) y la Prepuna presentan mayor variabilidad. Según el Gráfico 12 se tiene un 4,4 % (2 mieles – San Lucas y Puna) del total de las muestras con un valor superior al 0,6 % de ceniza, valor máximo permisible según el *Codex Alimentario* para miel de abeja.

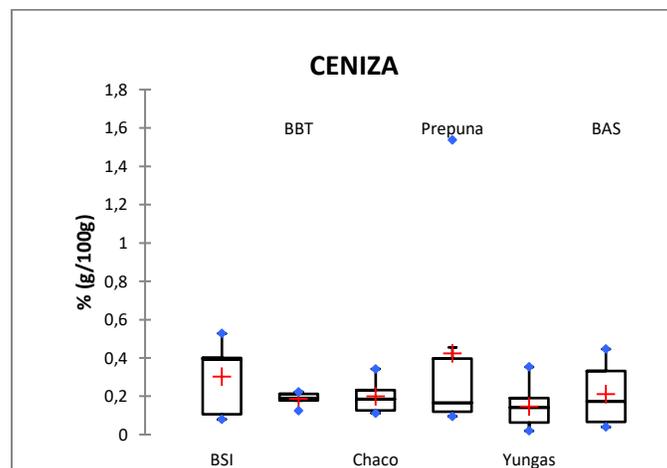
Gráfico 12: Comparación de Ceniza por localidades respecto a los límites permisibles



Los valores más altos según el diagrama de caja y bigotes, mostrados en la Gráfica 13 corresponden a la región de la Prepuna con un valor<sub>min</sub> de 0,0950 % (Tupiza), un valor<sub>max</sub> de 1,5364 % (San Lucas) y una mediana de 0,1670 % (Quime).

Los valores más bajos según el Gráfico 13, corresponden a la región de los Yungas con un valor<sub>min</sub> de 0,0198 % (Mururata), un valor<sub>max</sub> de 0,3529 % (Camata) y una media de 0,1420 % (Santa Ana y Pacallo).

Gráfico 13: Diagrama de caja y bigote para Cenizas



### 5.2.2. Sólidos Insolubles en agua

Los resultados obtenidos para el parámetro de sólidos insolubles en agua se muestran en la Tabla 14.

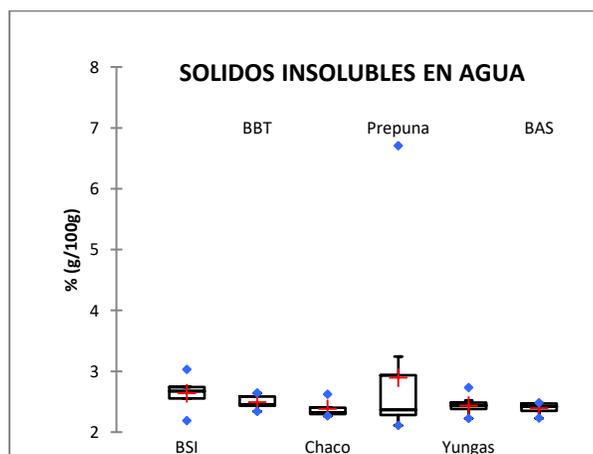
Tabla 14: Sólidos Insolubles en agua (%) de miel de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Rango	
Bosque seco interandino (BSI)	5	2,638	2,190	3,031
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	2,491	2,341	2,641
Chaco	5	2,381	2,264	2,622
Prepuna	11	2,895	2,108	6,705
Yungas	14	2,432	2,225	2,730
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	2,389	2,228	2,479

Las seis regiones presentan una similitud entre los datos reportados y con la mayor variabilidad la región de la Prepuna.

Los valores más altos según el Gráfico 14 del diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región de la Prepuna con un valor<sub>min</sub> de 2,108 % (Tupiza), un valor<sub>max</sub> de 6,705 % (Tumúsila) y una mediana de 2,365 % (Cotagaita).

Gráfico 14: Diagrama de caja y bigote para Sólidos insolubles en agua



Los valores más bajos según el diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región del Chaco con un valor<sub>min</sub> de 2,264 % (Yacuiba), un valor<sub>max</sub> de 2,622 % (Camiri) y una media de 2,322 % (Machareti).

### 5.2.3. Conductividad Eléctrica

Los resultados obtenidos para el parámetro de conductividad eléctrica se muestran en la Tabla 15.

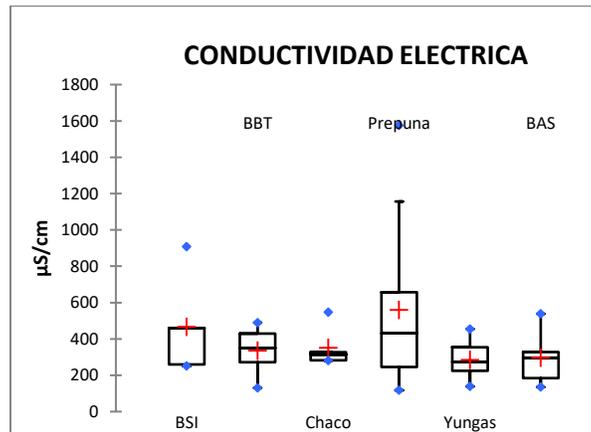
Tabla 15: Conductividad Eléctrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) de miel de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Rango	
Bosque seco interandino (BSI)	5	467,0	250,3	907,8
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	334,1	129,8	489,6
Chaco	5	350,1	280,5	547,6
Prepuna	11	559,3	117,2	1575,0
Yungas	14	283,8	138,5	454,8
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	296,3	135,0	538,2

Las regiones con mayor similitud con respecto al valor de la media se pueden observar en dos grupos, el primer grupo: los Yungas y la región del Bosque amazónico sub-andino (BAS) y el segundo grupo: el Bosque Boliviano-Tucumano (BBT) y la región del Chaco; y con la mayor variabilidad la región de la Prepuna. Teniendo el 8,8 % (4 mieles – San Lucas, Puna, Vallegrande y Villa Abecia) del total de las muestras un valor superior a 800  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ; valor máximo permisible según el *Codex Alimentario* para miel de abeja. Probablemente estas cuatro mieles puedan tratarse de mieles de mielada.

Los valores más altos según el Gráfico 15 del diagrama de caja y bigotes, mostrados en la gráfica corresponden a la región de la Prepuna con un valor<sub>min</sub> de 117,2  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (Cotagaita), un valor<sub>max</sub> de 1575  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (San Lucas) y una mediana de 431,3  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (Quime).

Gráfico 15: Diagrama de caja y bigote para Conductividad Eléctrica



Los valores más bajos según el diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región de los yungas con un valor<sub>min</sub> de 138,5µS/cm (Chonta), un valor<sub>max</sub> de 454,8µS/cm (Camata) y una media de 273,9 µS/cm (Villa exaltación y Coroico).

#### 5.2.4. pH

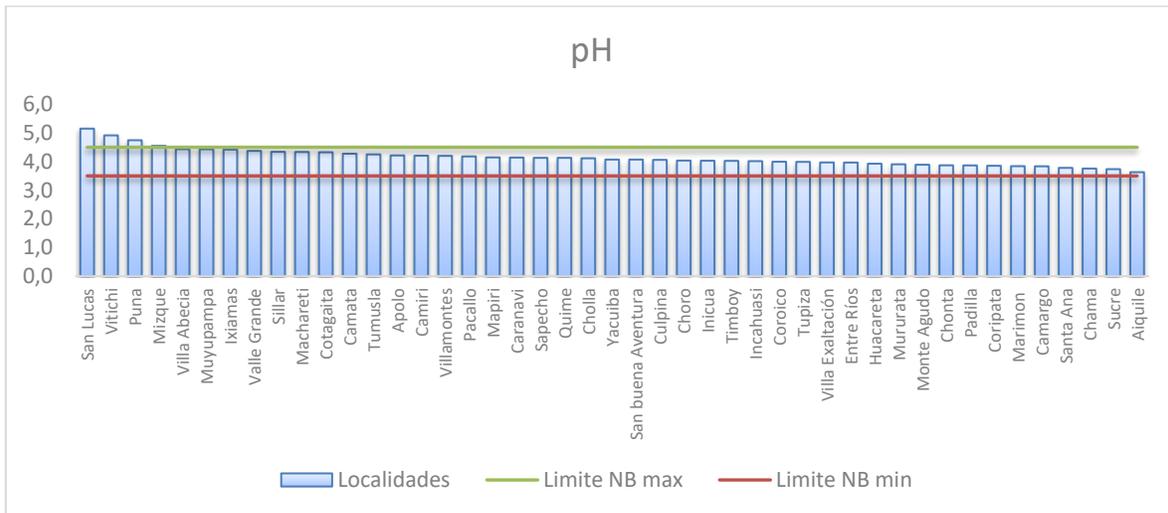
Los resultados obtenidos para el parámetro de pH se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16: pH de miel de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Rango		Límites Permisibles
Bosque seco interandino (BSI)	5	4,10	3,63	4,55	Norma Boliviana: 3,5 – 4,5
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	3,94	3,87	4,03	
Chaco	5	4,25	4,07	4,43	
Prepuna	11	4,35	3,84	5,15	
Yungas	14	4,01	3,76	4,28	
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	4,14	3,84	4,42	

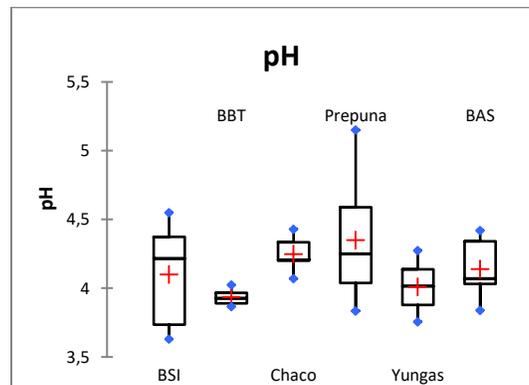
Las regiones con mayor similitud con respecto al valor de la media son: el Bosque seco interandino (BSI) y la región del Bosque amazónico sub-andino (BAS) y con la mayor variabilidad la región de la Prepuna. Según el Gráfico 16 el 8,8 % (4 mieles – Mizque, Vitichi, Puna y San Lucas) del total de las muestras un valor superior a 4,5 pH; valor máximo permisible según norma boliviana. Probablemente estas cuatro mieles puedan tratarse de mieles de mielada.

Gráfico 16: Comparación de pH por localidades respecto a los límites permisibles



Los valores más altos según el Gráfico 17 del diagrama de caja y bigotes, mostrados en la gráfica corresponden a la región de la Prepuna con un valor<sub>min</sub> de 3,84 pH (Camargo), un valor<sub>max</sub> de 5,15 pH (San Lucas) y una mediana de 4,25 pH (Tumúsila).

Gráfico 17: Diagrama de caja y bigote para pH



Los valores más bajos según el diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región de los Bosque Boliviano-Tucumano (BBT) con un valor<sub>min</sub> de 3,87pH (Padilla), un valor<sub>max</sub> de 4,03pH (Timboy) y una media de 3,93 pH (Huacareta).

### 5.2.5. Actividad de agua (Aw)

Los resultados obtenidos para el parámetro de actividad de agua se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17: Actividad de agua (Aw) de miel de 6 regiones de Bolivia

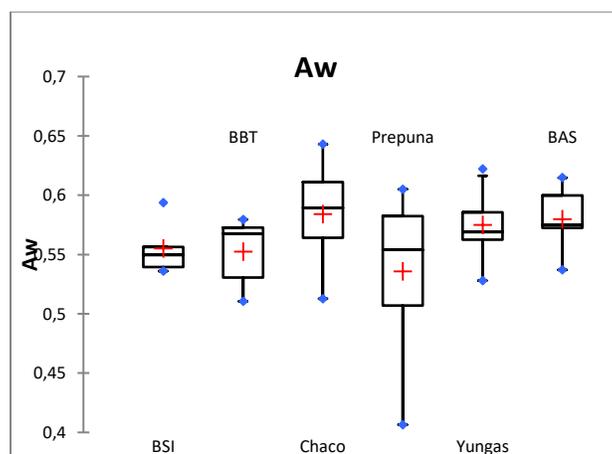
Región	N	Media	Rango	
Bosque seco interandino (BSI)	5	0,555	0,536	0,594
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	0,552	0,511	0,580
Chaco	5	0,584	0,513	0,643
Prepuna	11	0,536	0,407	0,605
Yungas	14	0,575	0,528	0,622
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	0,580	0,537	0,615

Las regiones con mayor similitud con respecto al valor de la media se pueden observar en dos grupos, el primer grupo: los Bosque seco interandino (BSI) y la región del Bosque Boliviano-Tucumano (BBT) y el segundo grupo: el Bosque amazónico sub-andino (BAS) y la región del Chaco; y con la mayor variabilidad la región de la Prepuna.

Los valores más altos según el Gráfico 18 del diagrama de caja y bigotes, mostrados en la gráfica corresponden a la región del Chaco con un valor<sub>min</sub> de 0,513(Yacuiba), un valor<sub>max</sub> de 0,643 (Camiri) y una mediana de 0,589 (Villa Montes).

Gráfico 18: Diagrama de caja y bigote para

### Actividad de Agua



Los valores más bajos según el diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región de la Prepuna con un valor<sub>min</sub> de 0,407 (Tupiza), un valor<sub>max</sub> de 0,605 (Villa Abecia) y una media de 0,554 (Puna). Teniendo el 17,8 % (8 mieles Camiri, Camata, Mapiri, San buenaventura, Machareti, Villa Abecia, Coroico y Ixiamas) del total de las muestras un rango de 0,600 – 0,700 rango limite asignado a una buena calidad de miel permisible según algunos autores.

### 5.2.6. Humedad

Los resultados obtenidos para el parámetro de humedad se muestran en la Tabla 18.

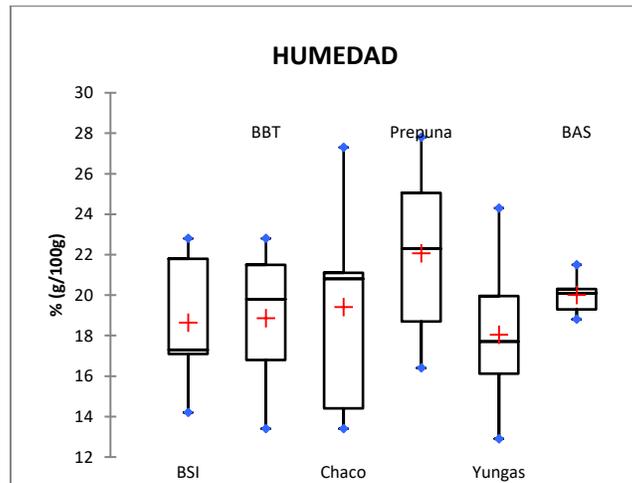
Tabla 18: Humedad (%) de miel de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Rango		Límites Permisibles
<b>Bosque seco interandino (BSI)</b>	5	18,6	14,2	22,8	Norma Boliviana y Codex Alimentario: 20 %
<b>Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)</b>	5	18,9	13,4	22,8	
<b>Chaco</b>	5	19,4	13,4	27,3	
<b>Prepuna</b>	11	22,1	16,4	27,8	
<b>Yungas</b>	14	18,0	12,9	24,3	
<b>Bosque amazónico sub-andino (BAS)</b>	5	20,0	18,8	21,5	

Las regiones con mayor similitud con respecto al valor de la media pueden observarse en dos grupos, el primer grupo: los Bosque seco interandino (BSI) y la región del Bosque Boliviano-Tucumano (BBT) y el segundo grupo: el Bosque amazónico sub-andino (BAS) y la región del Chaco; y con la mayor variabilidad la región del Chaco.

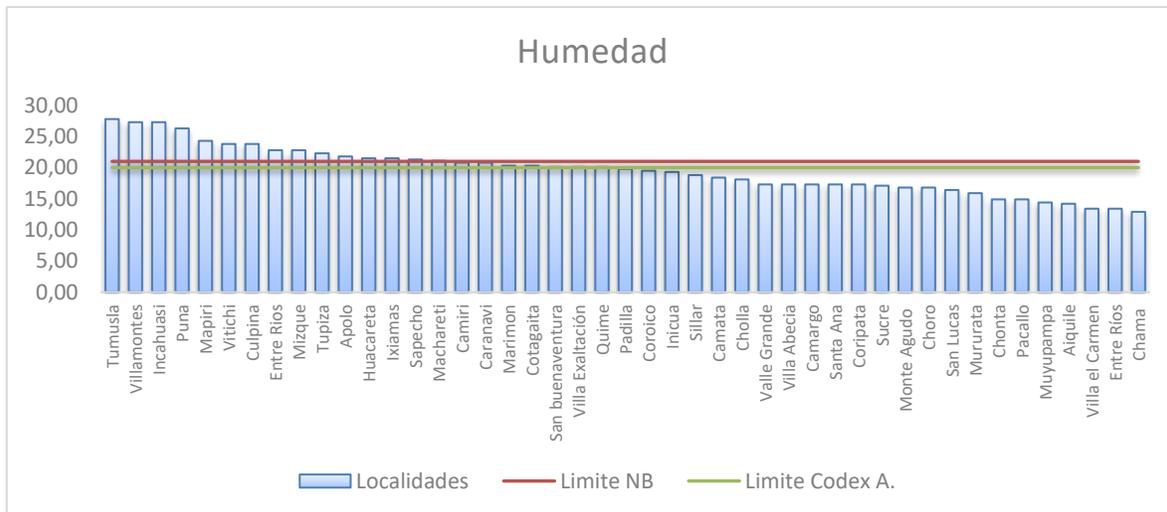
Los valores más altos según el Gráfico 19 del diagrama de caja y bigotes, mostrados en la gráfica corresponden a la región de la Prepuna con un valor<sub>min</sub> de 16,4 % (San Lucas), un valor<sub>max</sub> de 27,8 % (Tumúsila) y una mediana de 22,3 % (Cotagaita).

Gráfico 19: Diagrama de caja y bigote para Humedad



Los valores más bajos según el diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región de los Yungas con un valor<sub>min</sub> de 12,9 % (Chama), un valor<sub>max</sub> de 24,3 % (Mapiri) y una mediana de 17,7 % (Chonta y Coripata).

Gráfico 20: Comparación de Humedad (%) por localidades respecto a los límites permisibles



Teniendo el 33,3 % (15 mieles) del total de las muestras un valor superior a 20 % valor máximo permisible según el *Codex Alimentario* y Norma Boliviana para miel de abeja; y un 11,1 % (5 mieles Tumúsula, Villamontes, Incahuasi, Puna y Mapiri) supero el 23 % de humedad valor asignado para mieles de Brezo o de uso industrial; Se podría decir que este grupo de 5 mieles puede presentar adulteraciones. Pero el mayor porcentaje de las mieles colectadas presentan madurez (Zandamela, 2008).

### 5.2.7. Color

Los resultados obtenidos para los parámetros de color L\* se muestran en la Tabla 19.

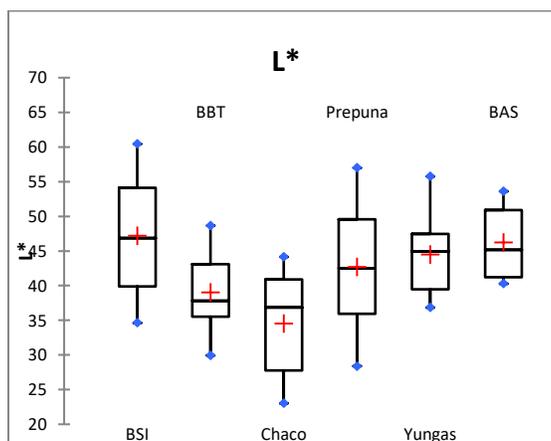
Tabla 19: Color (L\*) de miel de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Rango	
Bosque seco interandino (BSI)	5	47,20	34,63	60,44
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	39,00	29,93	48,65
Chaco	5	34,53	23,03	44,15
Prepuna	11	42,68	28,38	57,01
Yungas	14	44,48	36,84	55,75
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	46,23	40,28	53,61

Las regiones con mayor similitud con respecto al valor de la media son: los Yungas, Prepuna y la región del Bosque amazónico sub-andino (BAS) y con la mayor variabilidad la región de los Bosque seco interandino (BSI).

Los valores más altos según el Gráfico 21 del diagrama de caja y bigotes, mostrados en la gráfica corresponden a la región de los Bosque seco interandino (BSI) con un valor<sub>min</sub> de 34,63 (Vallegrande), un valor<sub>max</sub> de 60,44 (Apolo) y una mediana de 46,88 (Mizque).

Gráfico 21: Diagrama de caja y bigote para L\*



Los valores más bajos según el diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región del Chaco con un valor<sub>min</sub> de 23,03(Camiri), un valor<sub>max</sub> de 44,15(Machareti) y una mediana de 36,84 (Muyupampa).

Los resultados obtenidos para los parámetros de color a\* se muestran en la tabla 20.

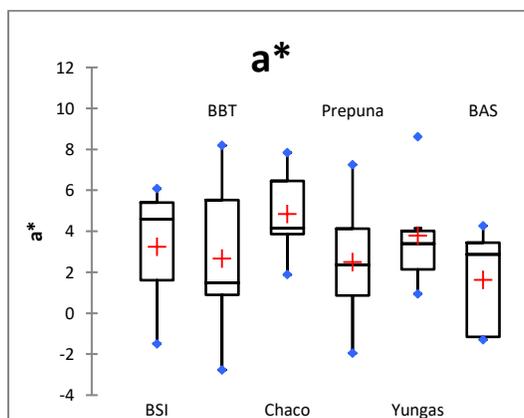
Tabla 20: Color (a\*) de miel de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Rango	
Bosque seco interandino (BSI)	5	3,24	-1,49	6,08
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	2,67	-2,77	8,19
Chaco	5	4,84	1,89	7,83
Prepuna	11	2,50	-1,95	7,25
Yungas	14	3,78	0,95	8,62
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	1,63	-1,29	4,26

Las regiones con mayor similitud con respecto al valor de la media son: los Yungas, y la región de los Bosque seco interandino (BSI) y con la mayor variabilidad la región de los Bosque Boliviano-Tucumano (BBT).

Los valores más altos según Gráfico 22 del diagrama de caja y bigotes, mostrados en la gráfica corresponden a la región del Chaco con un valor<sub>min</sub> de 1,89(Camiri), un valor<sub>max</sub> de 7,83(Machareti) y una mediana de 4,16 (Yacuiba).

Gráfico 22: Diagrama de caja y bigote para a\*



Los valores más bajos según el diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región de los Bosque amazónico sub-andino (BAS) con un valor<sub>min</sub> de -1,29 (Inicua), un valor<sub>max</sub> de 4,26 (Marimon) y una mediana de 2,87(San Buenaventura).

Los resultados obtenidos para los parámetros de color b\* se muestran en la tabla 21.

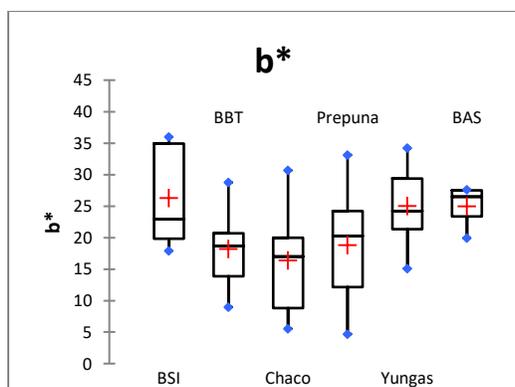
Tabla 21: Color (b\*) de miel de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Rango	
Bosque seco interandino (BSI)	5	26,31	17,90	35,98
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	18,19	8,97	28,76
Chaco	5	16,40	5,55	30,67
Prepuna	11	18,84	4,70	33,12
Yungas	14	25,04	15,10	34,21
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	24,98	19,93	27,60

Las regiones con mayor similitud con respecto al valor de la media son:la Prepuna y la región de Bosque Boliviano-Tucumano (BBT) y con la mayor variabilidad la región del Chaco.

Los valores más altos según Gráfico 23 del diagrama de caja y bigotes, mostrados en la gráfica corresponden a la región de los Bosque seco interandino (BSI) con un valor<sub>min</sub> de 17,90 (Aiquile), un valor<sub>max</sub> de 35,98 (Apolo) y una mediana de 22,89 (Sucre).

Gráfico 23: Diagrama de caja y bigote para b\*



Los valores más bajos según el diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región del Chaco con un valor<sub>min</sub> de 5,55 (Camiri), un valor<sub>max</sub> de 30,67 (Machareti) y una mediana de 17,02 (Muyupampa).

### 5.2.8. Acidez

Los resultados obtenidos para los parámetros de acidez se muestran en la Tabla 22.

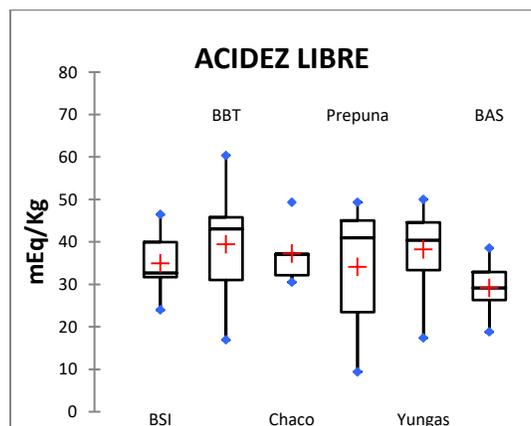
Tabla 22: Acidez (mEq/Kg) de miel de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Rango		Limite Permissible
<b>Bosque seco interandino (BSI)</b>	5	34,948	23,965	46,470	Norma Boliviana: 40 mEq/Kg  Codex Alimentario: 50 mEq/Kg
<b>Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)</b>	5	39,417	16,917	60,369	
<b>Chaco</b>	5	37,246	30,513	49,312	
<b>Prepuna</b>	11	34,131	9,400	49,348	
<b>Yungas</b>	14	38,249	17,377	50,017	
<b>Bosque amazónico sub-andino (BAS)</b>	5	29,134	18,795	38,536	

Las regiones con mayor similitud con respecto al valor de la media son: la Prepuna y la región del Bosque seco interandino (BSI) y con la mayor variabilidad, la región del Bosque Boliviano-Tucumano (BBT).

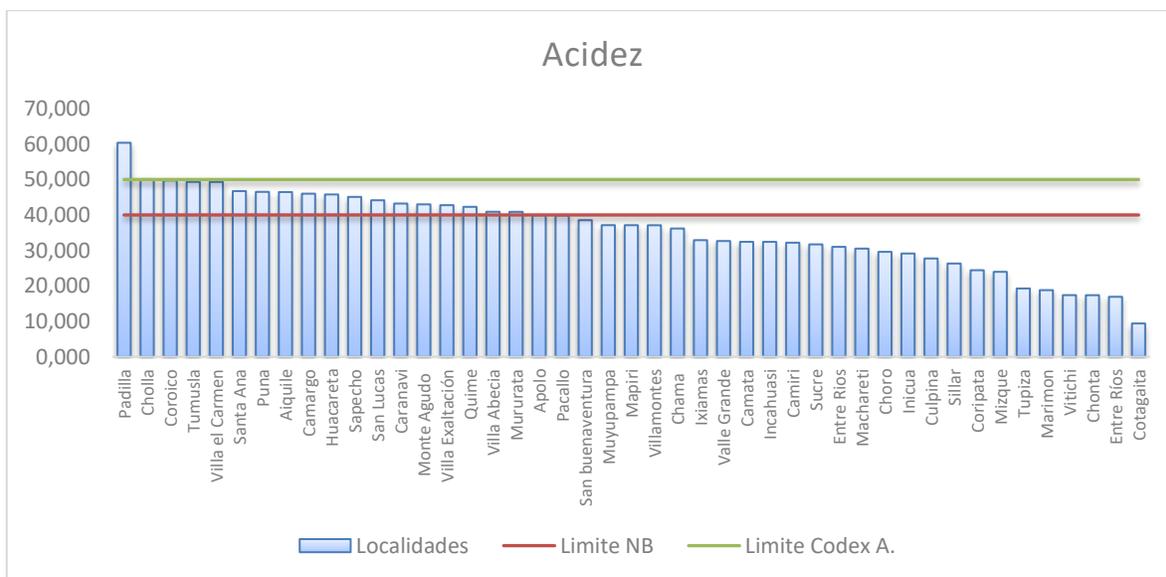
Los valores más altos según el Gráfico 24 del diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región de los Bosque Boliviano-Tucumano (BBT) con un valor<sub>min</sub> de 16,9 mEq/Kg (Entre Ríos), un valor<sub>max</sub> de 60,4 mEq/Kg (Padilla) y una mediana de 39,4 mEq/Kg (Monteagudo).

Gráfico 24: Diagrama de caja y bigote para Acidez



Los valores más bajos según el diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región de los Bosque amazónico sub-andino (BAS) con un valor<sub>min</sub> de 20,2m Eq/kg (Marimon), un valor<sub>max</sub> de 41,6 mEq/kg (San Buenaventura) y una mediana de 31,03 mEq/kg (Inicua).

Gráfico 25: Comparación de Acidez Libre (mEq/kg) por localidades respecto a los límites permisibles

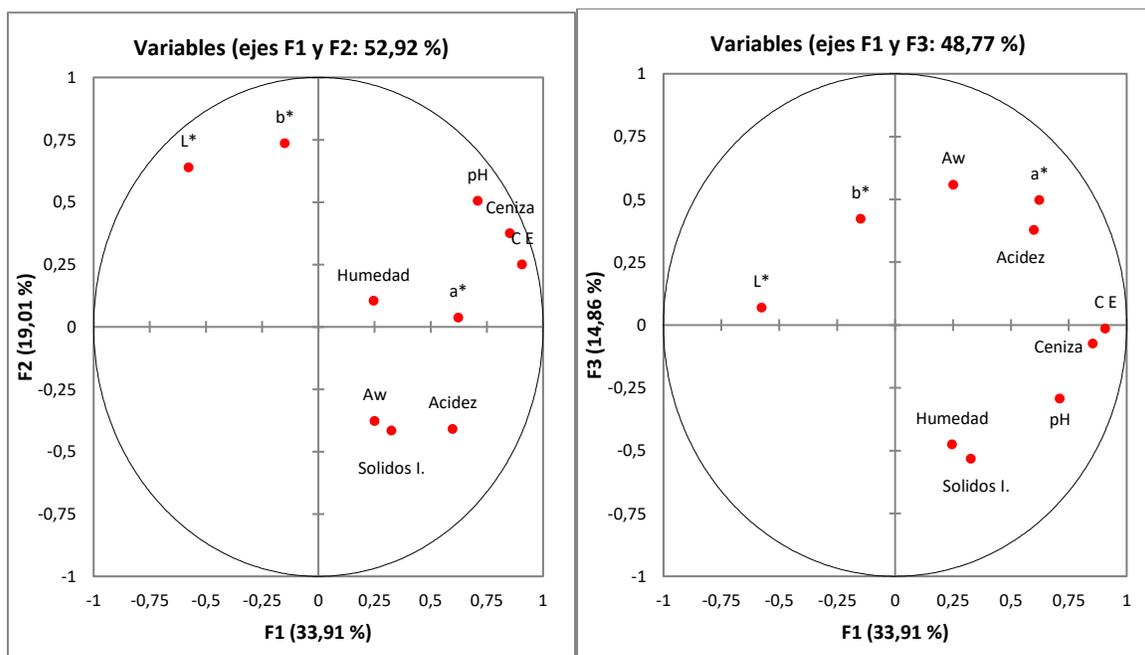


Solo la localidad de Padilla presenta valor superior a 50 mEq/kg valor máximo permisible según el *Codex Alimentario* para miel de abeja y la localidad de Cholla se encuentra en el límite permisible. Estos pueden presentar problemas por la fermentación prematura de la miel.

### 5.2.9. Análisis de correlación para los parámetros fisicoquímicos

Para un buen análisis se trabaja con respecto a los factores F1, F2 y F3 (con un acumulado del 67,8 %) será suficiente para una buena interpretación de los datos:

Gráfico 26: círculo de correlaciones



Del Gráfico 26 se puede observar que los parámetros de Ceniza – CE, pH – Ceniza y CE - pH presentan una correlación positiva importante (mayor a 0,700) y entre los parámetros de CE - a\*, Acidez - CE, Acidez - Aw, y Acidez - a\* existe una correlación intermedia (mayor a 0,400);

No existe correlación entre los parámetros Ceniza – Aw, Sólidos T. – pH, Sólidos T. – a\*, correlación (menor a 0,050).

También se puede decir de los Gráficos 27 y 28 respectivamente que el eje F1 tiene una vinculación muy alta con el parámetro de Ceniza y CE y un poco más baja con el parámetro pH; el eje F2 tiene una completa vinculación intermedia con el parámetro L\* y b\*; para eje F3 se tiene cierta vinculación con los parámetros sólidos I., Aw y Humedad.

Gráfico 27: Biplot de las regiones de muestreo F1 y F2

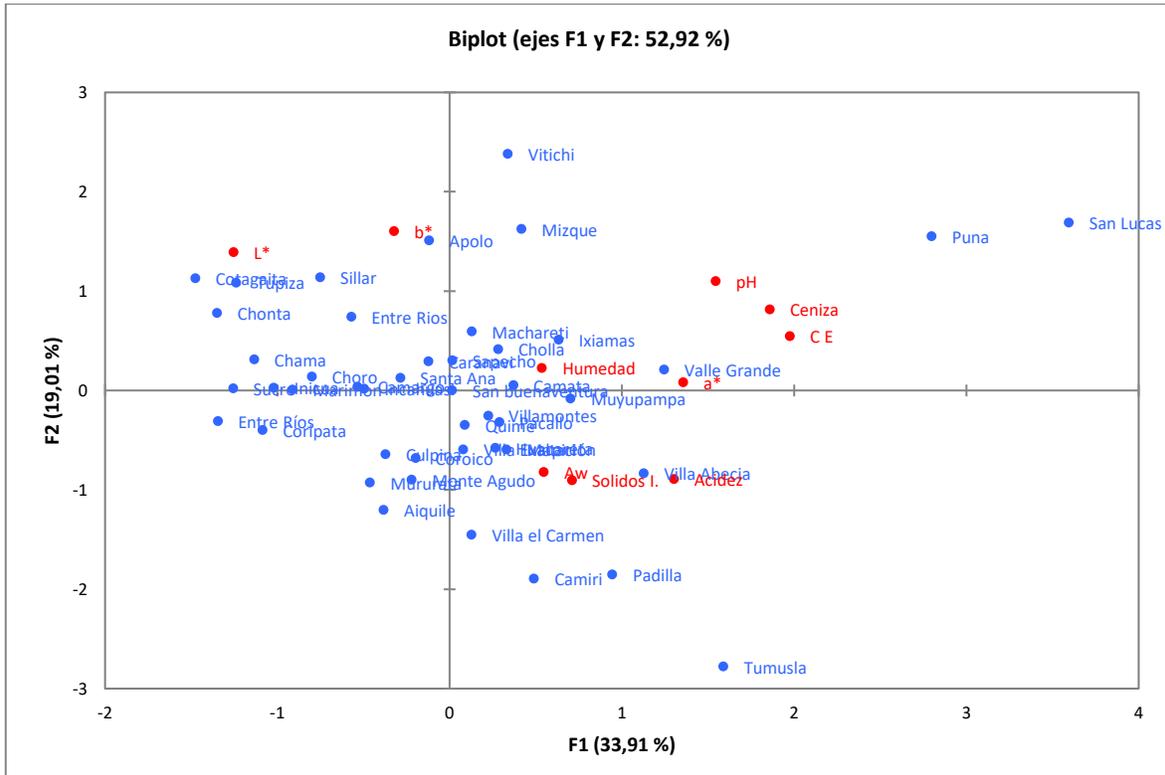
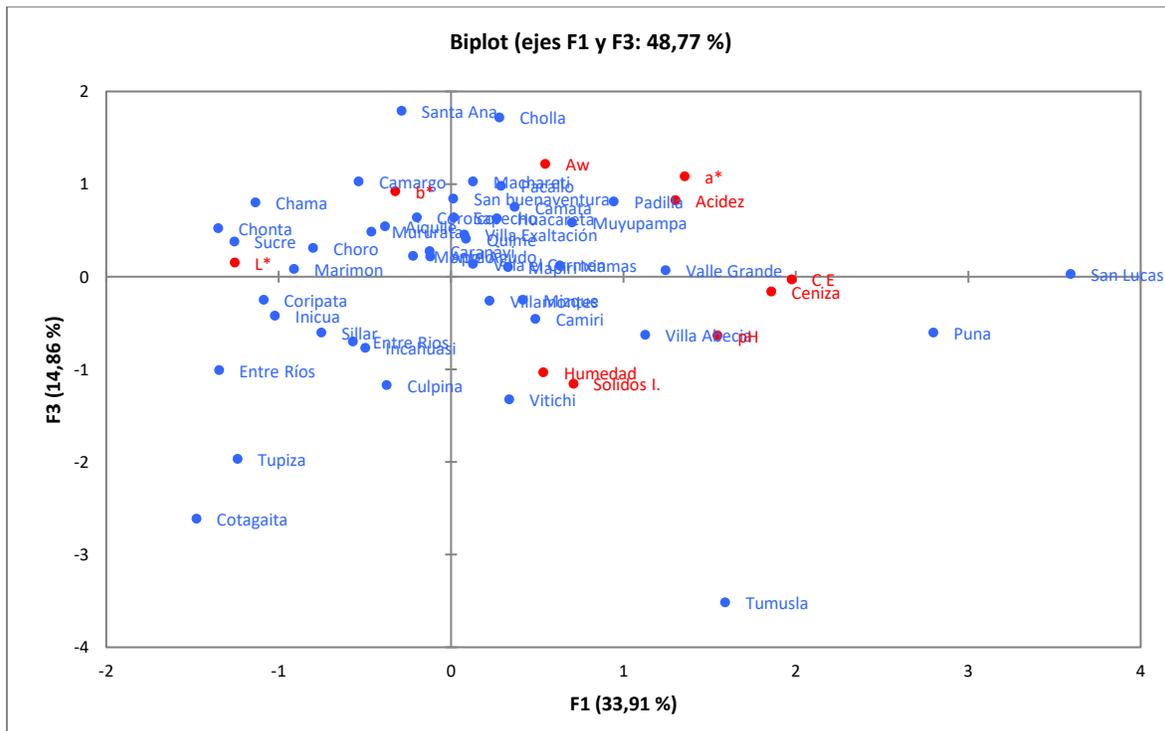
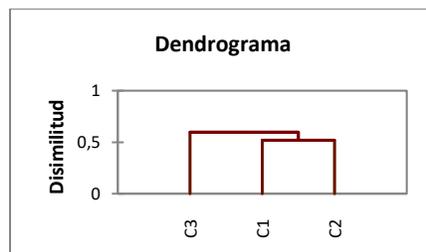
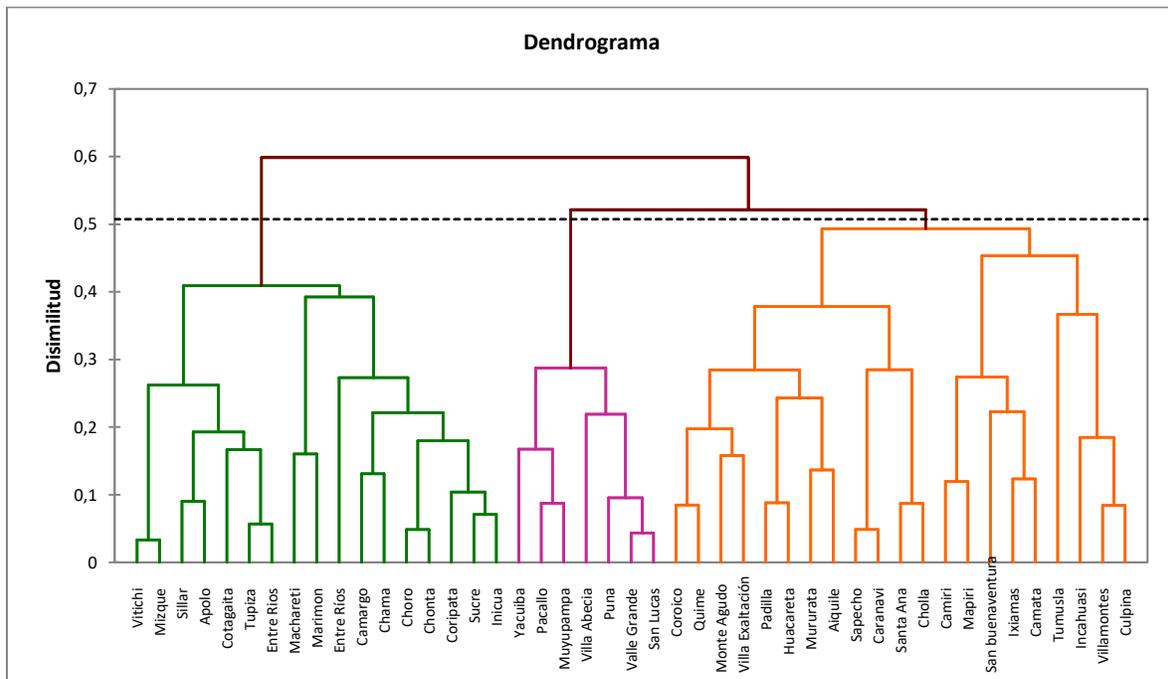


Gráfico 28: Biplot de las regiones de muestreo F1 y F3



De la Gráfico del biplot se puede decir que los parámetros de Ceniza, CE y pH presentan las localidades con mayor valor son: Vallegrande, Sucre, Choro, Coripata, Inicua, San Lucas y Puna. para los parámetros L\* y b\* las localidades con mayor valor son: Mizque, Vitichi, Apolo, Mururata, Camiri, Padilla y Monte Agudo. Finalmente, para los parámetros solidos I., Aw y Humedad las localidades con mayor valor son: Cotagaita, San Buenaventura, Pacollo, Cholla, Santa Ana y Camargo.

Gráfico 29: Dendrograma de parámetros fisicoquímicos



En el Gráfico 29 del dendrograma se puede observar una clara división de tres clases o clústers el C3 agrupa las localidades con características resaltantes respecto a los parámetros L\* y b\*, el C2 representa el grupo de localidades más grande con respecto a los demás conglomerados y está asociado a los parámetros solidos I., Aw y Humedad mayoritariamente. Y finalmente el clúster C1 agrupa a las localidades con características resaltantes con respecto a los parámetros Ceniza, CE y pH.

## **Discusión**

### **Humedad**

El contenido de humedad de la miel es un factor determinante en su calidad, porque influye en sus características organolépticas (viscosidad, cristalización, condiciones de palatabilidad y sabor), y es determinante en su vida útil. En las mieles con un contenido de humedad elevado existe crecimiento de levaduras (microorganismo en general), mientras que las mieles con humedad inferior al 14 % son excesivamente viscosas y difíciles de extraer y utilizar.

Según el estudio realizado los valores de humedad elevados, se encuentran en las localidades de Tumúsla, Incahuasi, Puna, Villa Montes y Mapiri; las primeras están ubicadas en la eco-región de la Prepuna, están a una altura de entre los 2600 y los 3000 msnm con una baja humedad y temperatura entre 15 y 19 °C; a estas condiciones no debería traer mayores problemas en el almacenamiento de la miel; entonces la elevada humedad pueden estar asociados a las condiciones de extracción a una falta de madurez (león, 2013), ya que la mayoría de los productores no dispone de una formación adecuada en apicultura; lo contrario sucede con las dos últimas localidades, al estar a una altura de entre 300 y 600 m.s.n.m. pueden ser afectadas en la etapa de almacenamiento por la humedad del ambiente.

### **Actividad de agua**

Del total de las localidades dos presentan mayor actividad de agua, Camata y Camiri con valores superiores al 0,62 Aw las demás se hallan dentro de los rangos permitidos. El valor considerado por algunos autores como límite para una miel de buena calidad es de 0,60 Aw; se puede decir que estas mieles tienen la cantidad de agua en estado libres suficiente para el desarrollo microbiano de levaduras osmófilas que se desarrollan entre 0,62 y 0,65 Aw; las mieles correspondientes a estas localidades no presentan capas blanquecinas, ni tienen una acidez elevada características de la presencia de estos microorganismos.

### **Acidez**

Las mieles analizadas muestran a las localidades de Padilla, Tumúsla, Puna, San Lucas y Coroico con un nivel superior a los límites permisibles; esta última localidad también presenta un valor de actividad de agua muy próxima al óptimo para una formación microbiológica; esta característica acida puede originarse en las secreciones salivares de las abejas, o de la utilización de panales viejos, estos ácidos contribuyen a la pronta fermentación.

## **Color**

La coloración de las mieles podría darse por pigmentos como carotenos, y xantofilas entre otras, por el contenido en minerales presentes en el néctar de las flores o en las secreciones de las plantas. Entonces este parámetro está relacionado con el origen botánico de las mieles. Por la correlación existente cuanto más oscura es una miel mayor es el porcentaje de minerales (Zandamela, 2008).

Las mieles estudiadas en el presente trabajo para el parámetro  $b^*$  todas presentan valores positivos representando esta la tonalidad amarilla; para el parámetro  $a^*$  las localidades de Entre Ríos, Cotagaita, Sucre, Inicua, Sillar y Tupiza presentan una ligera tonalidad verdosa y las demás localidades presentan tonalidades rojas; y en el parámetro  $L^*$  las localidades de Tumúsla, Padilla, Villa abecia y Vallegrande presentan el mayor oscurecimiento.

## **Conductividad eléctrica**

La conductividad eléctrica está relacionada con el contenido de minerales pues estos dotan a la miel la capacidad de conducción eléctrica (otros conductores son ácidos orgánicos, proteínas, azúcares, etc.), entonces este parámetro varía en función del origen botánico del cual procedan las mieles.

Las localidades de San Lucas, Puna, Villa Abecia y Vallegrande presentan valores mayores a 800 uS/cm; y las dos últimas localidades mencionadas están estrechamente relacionadas a un color oscuro, por lo cual se asume que en estas localidades se tiene mieles de mielada.

## **Cenizas**

El contenido mineral en mieles puede ser afectado por un ambiente contaminado, por el manejo del apicultor o las condiciones del suelo; de forma general se considera que la presencia de elementos minerales en la miel es bajo y muy variable, entorno a un 0,2 % en mieles de origen floral y de un 1 % en mieles de mielato. El elemento más abundante es el potasio que representa hasta un 80 % de la materia mineral total, otros elementos habitualmente encontrados son: Ca, Na, Fe, P, Mg, Zn, Cu y Mn (Kumul, 2015).

Localidades como San Lucas y Puna presentan valores superiores al límite permisible, Vallegrande y Villa Abecia están al límite de los valores permisibles; a partir del análisis de ceniza, conductividad y color se confirma que, del total de las 45 muestras de miel, en estas cuatro localidades se encuentran mieles de mielada.

Para el análisis fisicoquímico se observa una correlación importante entre Los parámetros de: Ceniza – CE, pH – Ceniza, CE – pH, L\* - a\* y Acidez T. - a\* presentan una correlación positiva importante y las localidades con mayor valor en estos parámetros son: Vallegrande, San Lucas, Puna y Villa Abecia la mayoría de estos de la eco-región de la Prepuna o del conglomerado C1.

Los parámetros de CE - a\*, Acidez T. - CE, Acidez T. - Aw, y Acidez T. - existe una correlación intermedia como se observa en los Gráficos de biplot da una formación de niveles mostrando variabilidad con respecto al agrupamiento de los diferentes parámetros. para los parámetros L\* y b\* las localidades con valor representativo son: Mizque, Vitichi, Apolo, Mururata, Camiri, Padilla y Monte Agudo Finalmente para los parámetros solidos I., Aw y Humedad las localidades con mayor valor son: Cotagaita, San Buenaventura, Pacollo, Cholla, Santa Ana y Camargo.

### 5.3. Determinación de frescura de miel

#### 5.3.1. Determinación de Actividad de Diastasa

Los resultados obtenidos para el parámetro de actividad de diastasa se muestran en la Tabla 23.

Tabla 23: Actividad de diastasa (°G) de miel de 6 regiones de Bolivia

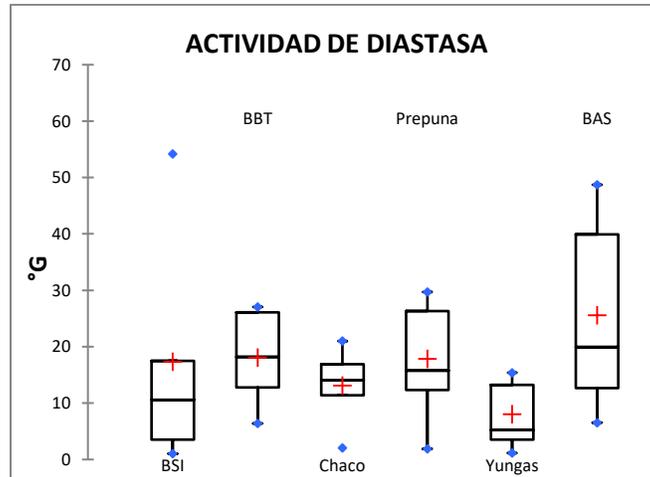
Región	N	Media	Rango		Límites Permisibles
<b>Bosque seco interandino (BSI)</b>	5	17,355	1,029	54,187	Norma Boliviana y Codex Alimentario: 3 °G
<b>Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)</b>	5	18,095	6,392	27,048	
<b>Chaco</b>	5	13,090	2,053	21,001	
<b>Prepuna</b>	11	17,838	1,874	29,699	
<b>Yungas</b>	14	8,021	1,129	15,398	
<b>Bosque amazónico sub-andino (BAS)</b>	5	25,563	6,540	48,717	

Las regiones con mayor similitud con respecto al valor de la media son: el Bosque Boliviano-Tucumano (BBT), Prepuna y la región del Bosque seco interandino (BSI) y con la mayor variabilidad la región del Bosque seco interandino (BSI).

Los valores más bajos según el Gráfico 30 del diagrama de caja y bigotes, mostrados en la gráfica corresponden a la región de los Bosque seco interandino

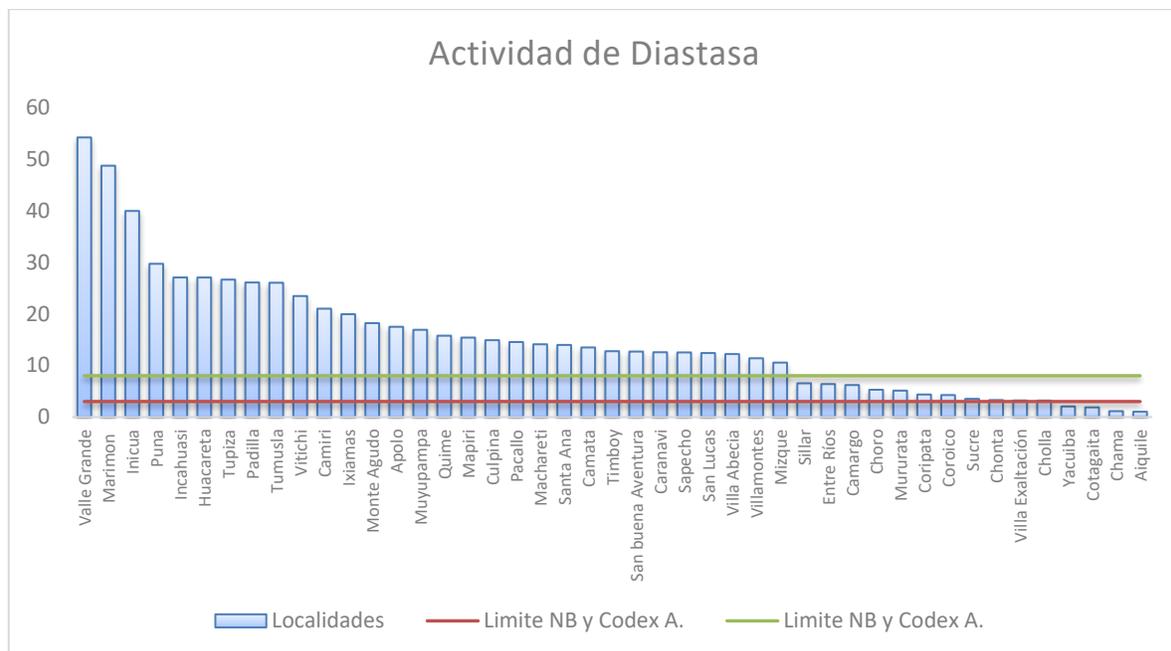
(BSI) con un valor<sub>min</sub> de 1,03 °G (Vallegrande), un valor<sub>max</sub> de 54,19 °G (Aiquile) y una mediana de 17,36 °G (Mizque).

Gráfico 30: Diagrama de caja y bigote para Actividad de diastasa



Según el Gráfico 31 se tiene un 24,4 % del total de las muestras entre los valores de 8 y 3 en la escala de Gothe (Sillar, Entre Ríos, Camargo, Choro, Mururata, Coripata, Coroico, Sucre, Chonta, Villa Exaltación y Cholla) y un 8,9 % por debajo de 3 en la escala de Gothe (Yacuiba, Cotagaita, Chama y Aiquile); límites registrado según el *Codex Alimentario* para miel de abeja.

Gráfico 31: Comparación de A.D. (°G) por localidades respecto a los límites permisibles



### 5.3.2. Determinación de hidroximetilfurfural

Los resultados obtenidos para el parámetro de Hidroximetilfurfural se muestran en la Tabla 24.

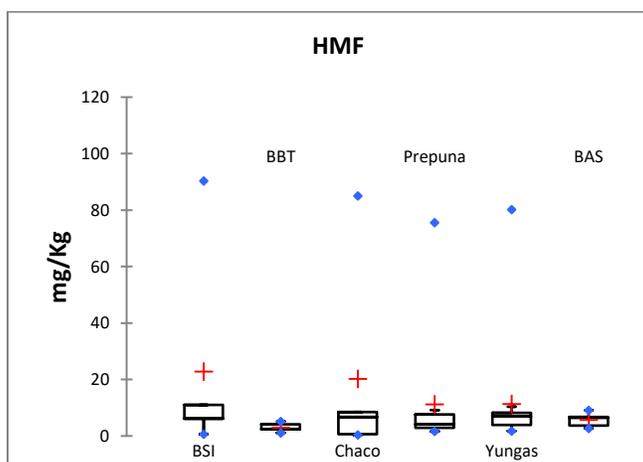
Tabla 24: Hidroximetilfurfural (mg/kg) de miel de 6 regiones de Bolivia

Región	N	Media	Rango		Límites Permisibles
Bosque seco interandino (BSI)	5	22,87	0,64	90,37	Norma Boliviana y Codex Alimentario: 40 mg/kg
Bosque Boliviano-Tucumano (BBT)	5	3,06	1,14	5,20	
Chaco	5	20,25	0,37	85,02	
Prepuna	11	11,26	1,60	75,63	
Yungas	14	11,34	1,76	80,16	
Bosque amazónico sub-andino (BAS)	5	5,73	2,68	9,10	

Las regiones con mayor similitud con respecto al valor de la media son: la Prepuna y la región de los Yungas y con la mayor variabilidad la región del Bosque seco interandino (BSI).

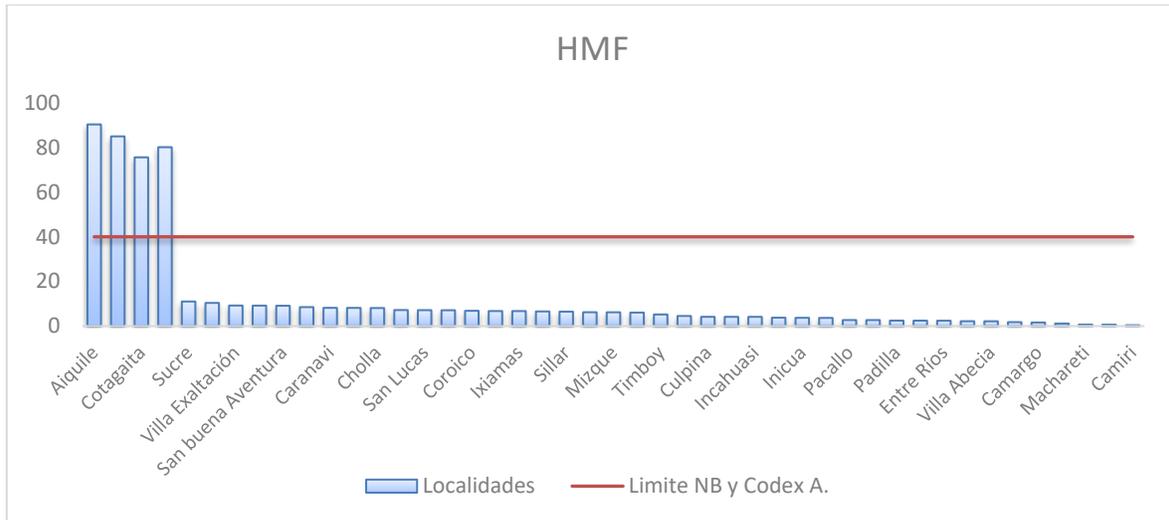
Los valores más altos según el Gráfico 32 del diagrama de caja y bigotes, mostrados en la gráfica corresponden a la región de los Bosque seco interandino (BSI) con un valor<sub>min</sub> de 0,64 mg/kg (Vallegrande), un valor<sub>max</sub> de 90,34 mg/kg (Aiquile) y una mediana de 6,19 mg/kg (Apolo).

Gráfico 32: Diagrama de caja y bigote para Hidroximetilfurfural



Los valores más bajos según el diagrama de caja y bigotes, corresponden a la región de los Bosque Boliviano-Tucumano (BBT) con un valor<sub>min</sub> de 1,139 (Huacareta), un valor<sub>max</sub> de 5,196 (Timboy) y una mediana de 2,448 (Padilla).

Gráfico 33: Comparación de HMF (mg/kg) por localidades respecto a los límites permisibles

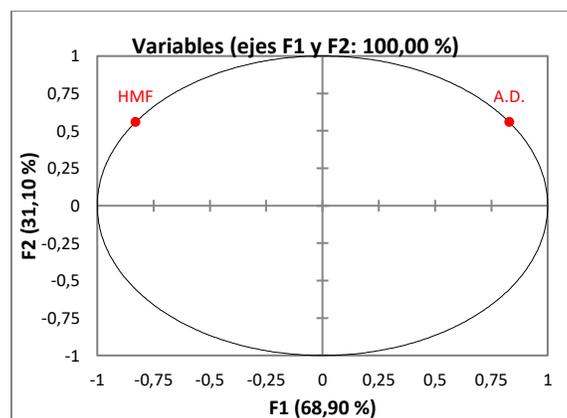


Según el Gráfico 33 se tiene el 8,8 % (Aiquile, Yacuiba, Chama y Cotagaita) del total de las muestras con un valor superior a 40 mg/kg como valor asignado según la Norma Boliviana y el *Codex Alimentario* para miel de abeja y 80 mg/kg con un tiempo mayor a 6 meses.

### 5.3.3. Análisis de correlación para los parámetros de frescura de la miel

Un análisis con respecto a los factores F1 y F2 (con un acumulado del 100 %) para una buena calidad e interpretación de los datos:

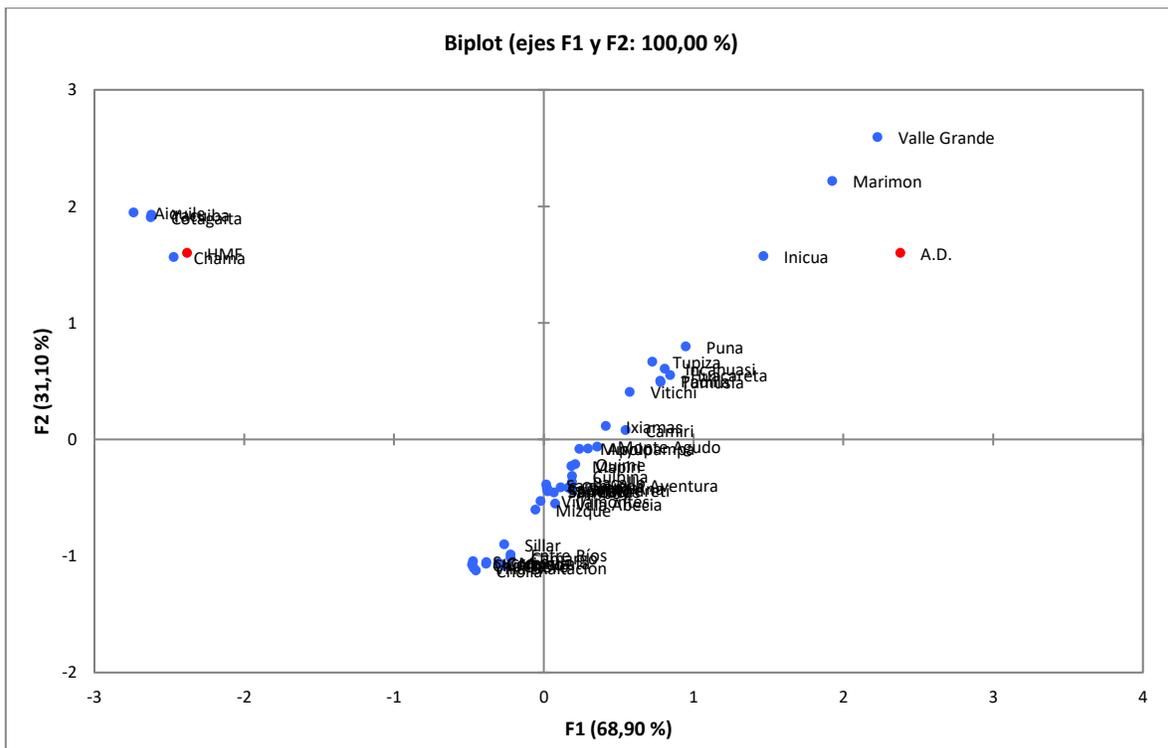
Gráfico 34: Circulo de correlaciones



Del Gráfico 34 se puede observar que los parámetros de Actividad de Diastasa e HMF tienen una correlación inversa (- 0,378)

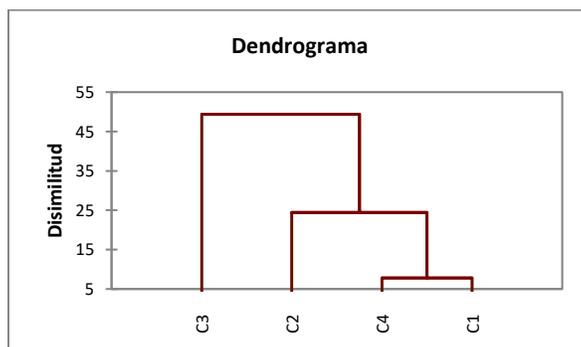
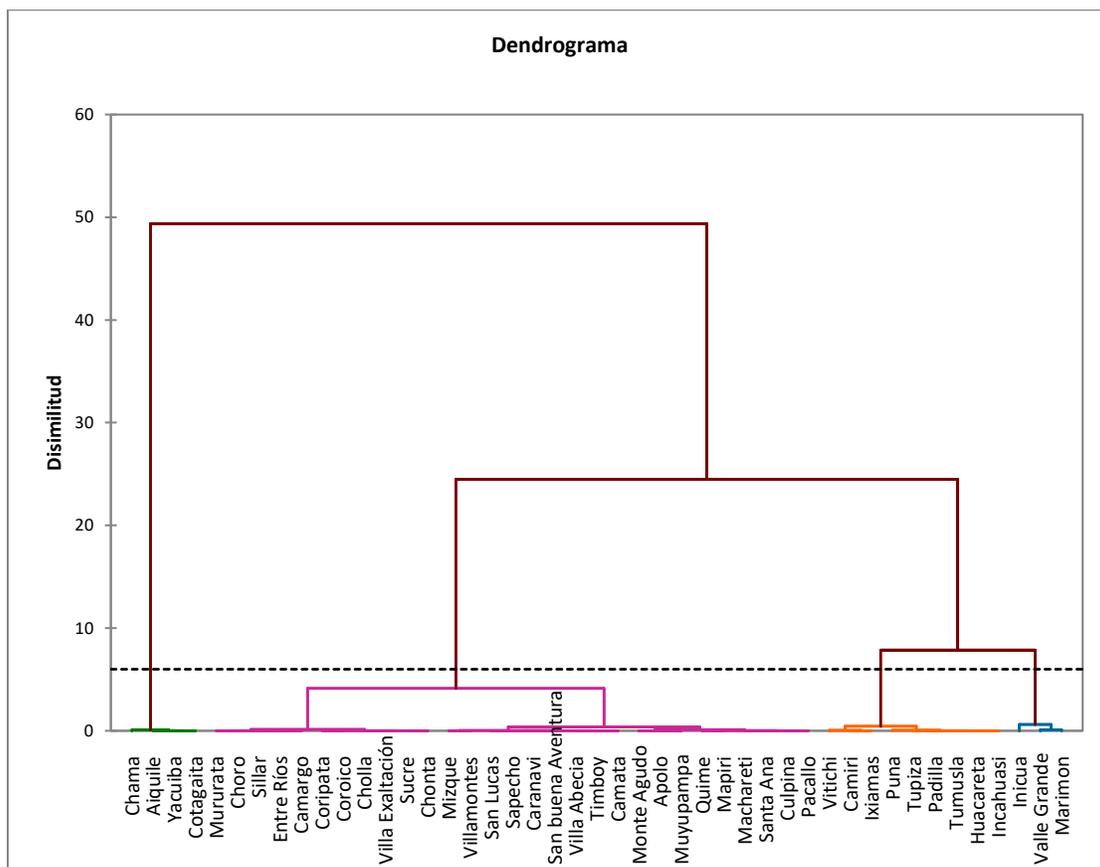
También se puede decir que el eje F1 tiene una alta vinculación con la actividad de diastasa y una vinculación inversa con el HMF, y con el eje F2 ambos parámetros tienen una correlación media.

Gráfico 35: biplot de las regiones de muestreo



Del Gráfico 35 del biplot se puede decir que para el parámetro de A.D. las localidades con valores bajos son las de Aiquile, Cotagaita, Yacuiba y Chama y estos mismos para el parámetro de HMF son las más altas. Con respecto a las demás localidades muestran un comportamiento muy semejante el uno al otro, como se observa en el Gráfico se tiene un gran conglomerado respecto al centro de los ejes manteniendo un equilibrio entre ambos parámetros.

Gráfico 36: Dendrograma de frescura



En el Gráfico 36 del dendrograma se puede observar una división en cuatro clases o clústers el C3 agrupa localidades con alto valor en el parámetro HMF y bajos valores para la A.D. Los clústers C1 y C4 representan los valores bajos en el parámetro HMF y altos valores para A.D. Finalmente C2 agrupa los valores intermedios.

## **Discusión de parámetros de frescura**

### **Hidroximetilfurfural**

El HMF aparece de forma espontánea y natural en la miel, favorecido por su medio ácido y su composición rica en monosacáridos (fructosa y glucosa). La velocidad de su formación se ve favorecida por el tiempo y la temperatura de almacenamiento y/o calentamiento.

Los valores reportados en las localidades de Aiquile, Yacuiba, Cotagaita y Chama reportan valores superiores a los límites permisibles esto puede ser causado a la alta temperatura en estas zonas y por una mala extracción del producto (León 2013), indirectamente se diría que existe una posible adulteración (por la adición de HMF externo).

### **Actividad de diastasa**

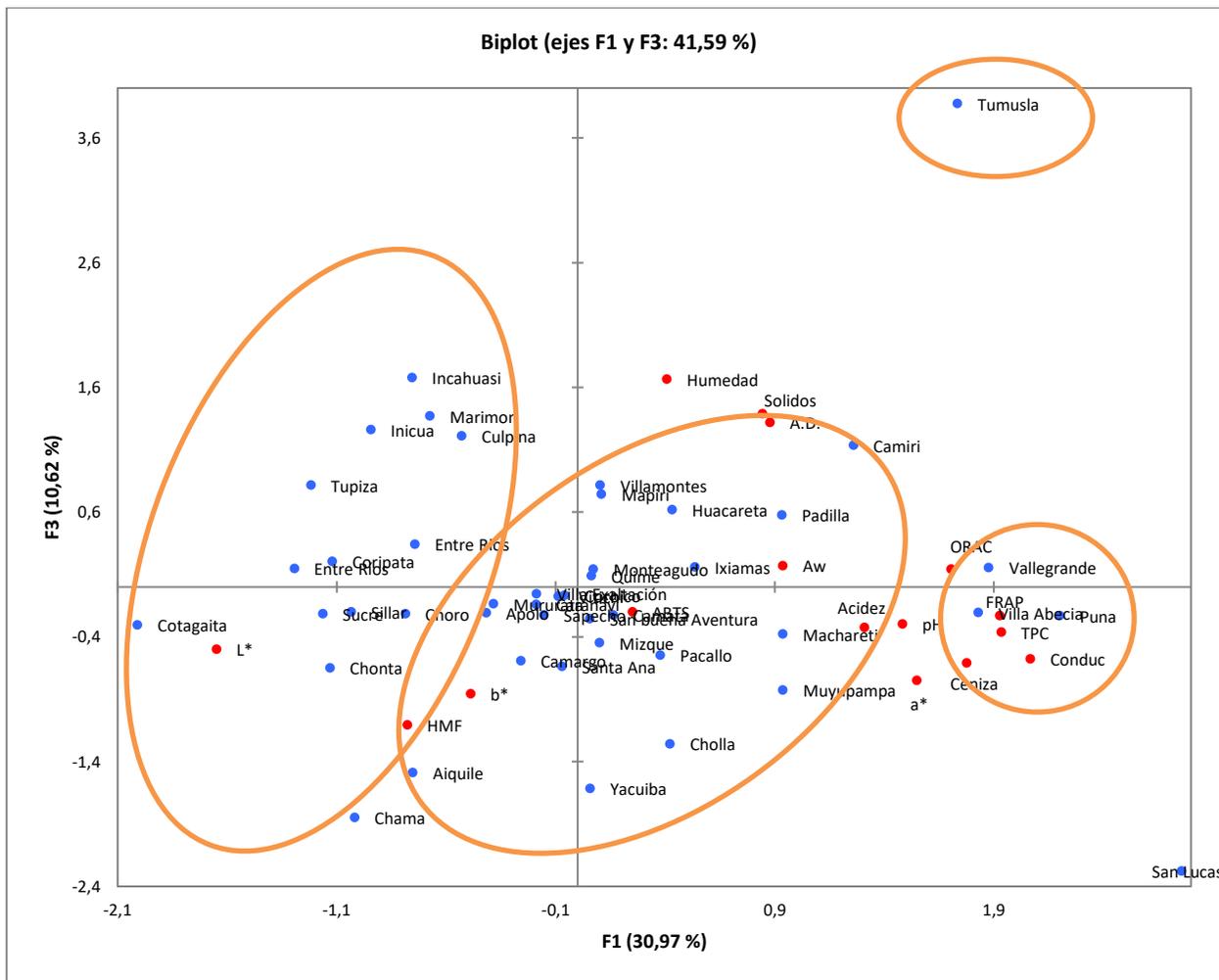
La presencia de la enzima diastasa en la mayoría de las mieles estudiadas está por encima del mínimo permisible, pero las localidades de: Sillar, Entre Ríos, Camargo, Choro, Mururata, Coripata, Coroico, Sucre, Chonta, Villa Exaltación y Cholla están por debajo de los 8 pero por encima de 3 en la escala de Gothe y no exceden los 15 mg/kg de HMF por lo cual no presentan problemas; las localidades que si están fuera de los límites mínimos permisibles son: Yacuiba, Cotagaita, Chama y Aiquile con un valor menor a 3 en la escala de Gothe. Los causantes de este bajo contenido de enzimas pueden darse por el envejecimiento de las mieles o calentamiento excesivo al momento de la colecta o una conjunción de ambas variables.

Las mieles de las cuatro localidades que forman el conglomerado C3 son analizadas en tiempos mayores a los seis meses, entonces el envejecimiento es el mayor factor que afecta a estas mieles y en algunos casos una mala manipulación.

#### **5.4. Análisis de correlación para los todos los parámetros analizados**

En el presente Gráfico 37 del biplot se observa todos los parámetros y regiones estudiadas y sus respectivas correlaciones.

Gráfico 37: Circulo de correlaciones para todos los parámetros



Del mismo Gráfico 37 se puede observar un resumen en la tabla 25 de las siguientes correlaciones entre los parámetros analizados.

Tabla 25: correlación entre parámetros

Parámetros		Correlación	Observaciones
Cond	Ceniza	0,937	Muy alta correlación
pH	Ceniza	0,772	Alta correlación
Cond	pH	0,745	Alta correlación
TPC	FRAP	0,690	Moderada correlación
L*	b*	0,642	Moderada correlación
Acidez	ORAC	0,620	Moderada correlación
Cond	TPC	0,616	Moderada correlación
Cond	FRAP	0,590	Moderada correlación

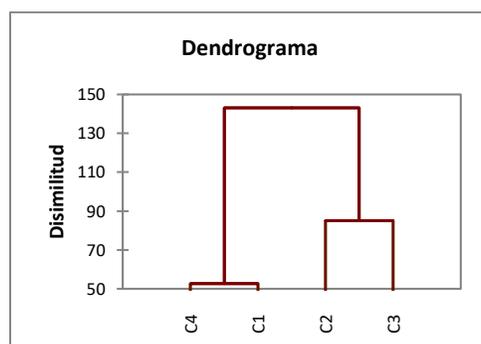
Parámetros		Correlación	Observaciones
L*	TPC	-0,581	Moderada correlación negativa
a*	ORAC	0,535	Moderada correlación
ORAC	FRAP	0,517	Moderada correlación
L*	ORAC	-0,509	Moderada correlación negativa
pH	FRAP	0,503	Moderada correlación
Acidez	a*	0,504	Moderada correlación

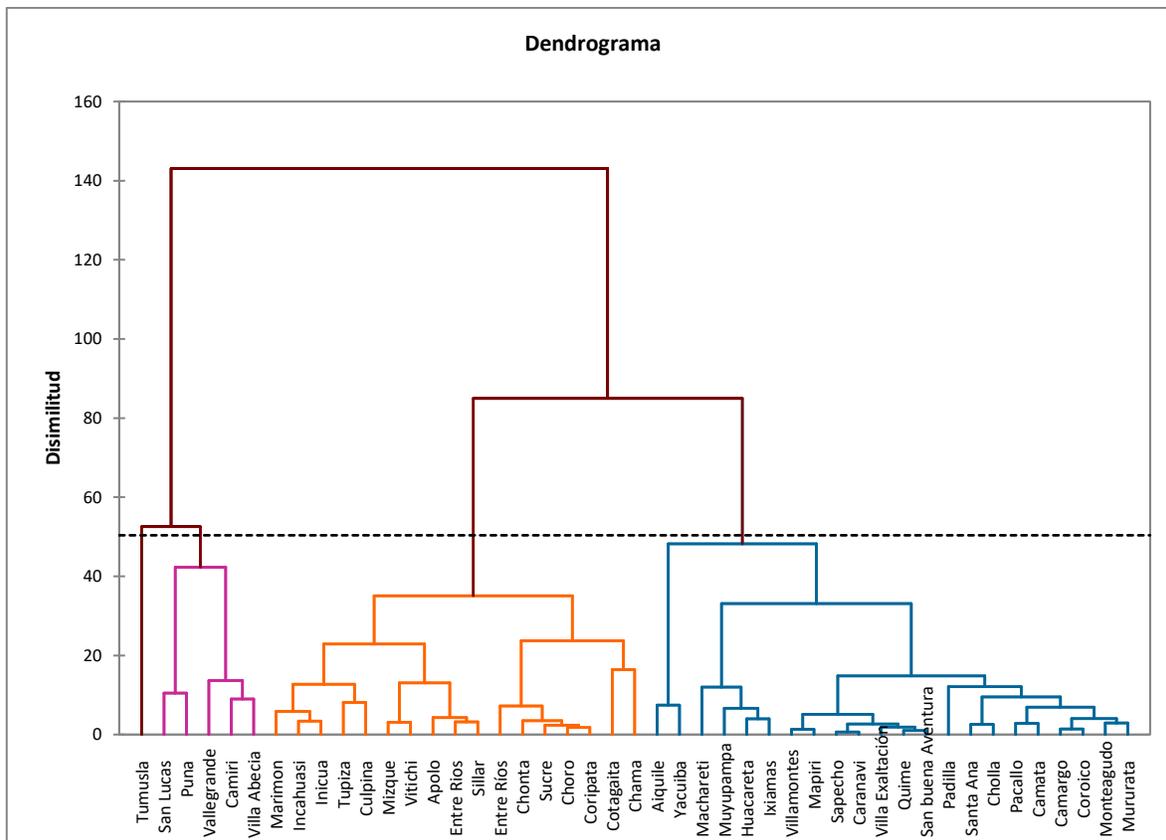
En la Tabla 26 se puede especificar los parámetros correlacionados a cada factor bajo el mismo sistema anterior.

Tabla 26: Correlación entre Factores y parámetros

	F1	F3
Cond	0,836	
FRAP	0,780	
TPC	0,783	
Ceniza	0,719	
ORAC	0,690	
L*	-0,667	
A.D.		0,533
pH	0,600	
a*	0,627	
HMF		-0,448
Acidez	0,530	
b*		-0,347
Humedad		0,673

Gráfico 38: Dendrograma de parámetros estudiados





En el Gráfico 38 del dendrograma se puede observar una clara división de cuatro clases o clústers, el C1 y C4 muestran los grupos más pequeños con seis localidades entre estas mieles de mielato y mieles envejecidas, el C2 y C3 representa los grupos más grandes con características semejantes.

## CAPÍTULO VI

### 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Del análisis de capacidad antioxidante se puede concluir que los valores encontrados de la producción Boliviana responden a niveles internacionales tanto en la región como en otros países del mundo; el método FRAP es el óptimo para este análisis debido a la buena correlación con fenoles totales y el método ORAC y la eco-región con mayor capacidad antioxidante es la del Chaco.

El análisis de los parámetros fisicoquímicos da como resultado la identificación de cuatro mieles de mielada en las localidades de San Lucas, Puna, Vallegrande y Villa Abecia, el resto de las mieles corresponde a mieles de origen floral; también se puede decir que una mala manipulación de parte de los apicultores (en los procesos de cosecha) afecta los parámetros de humedad, acidez y sólidos insolubles.

Todas las mieles están dentro de los parámetros permisibles de frescura a excepción de las localidades de Aiquile, Yacuiba, Cotagaita y Chama las cuales presenta envejecimiento y sobre calentamiento.

Del análisis de componentes principales y conglomerados de clúster se puede confirmar que, del total de muestras analizadas, los clústers C4 y C1 presenta las localidades de las mieles de mieladas y en los clústers C3 y C2 los valores altos y bajos son las localidades que presenta envejecimiento.

Los valores obtenidos para los parámetros analizados, por cada una de las localidades estudiadas no expresan correlación entre localidades de la misma eco-región, existe una gran variabilidad; por lo tanto, parámetros como altura y temperatura no son factores que definan las características de una miel de abeja.

En la mayoría de las mieles analizadas se cumple con los límites establecidos en la Norma Boliviana y en el Codex Alimentario, a excepción de algunas localidades: en el parámetro de ceniza se encuentran dos localidades (San Lucas y Puna) que superan el límite permisible, para la conductividad eléctrica cuatro localidades (San Lucas, Puna, Vallegrande y Villa Abecia) superan el límite, para la humedad son ocho las localidades (Tumúsla, Villamontes, Incahuasi, Puna, Mapiro, Vitichi, Culpina y Entre ríos) que superan el límite, una sola localidad (Padilla) supera los límites en el parámetro de acidez, para los parámetros de actividad de diastasa e HMF, cuatro localidades (Aiquile, Chama, Cotagaita y Yacuiba) superan los límites inferiores y superiores respectivamente.

## **RECOMENDACIONES**

Se recomienda que para futuras investigaciones sobre miel de abeja se realice un estudio melisopalínológico (ciencia que estudia el polen) de las mieles de abeja, los cuales contemplan un estudio del polen y esporas de este producto, para conocer los orígenes botánicos geográficos y seleccionar una mayor cantidad de localidades para su estudio e incluso abarcar otras regiones productoras de miel.

La miel es un producto natural que, desde la cosecha del néctar y transformación al producto final por las abejas, debe ser caracterizado a lo largo del año, obteniendo información y así poder evidenciar características que pueden ser generadas por condiciones climáticas y disponibilidad de la fuente botánica para las abejas.

La universidad debería capacitar a los apicultores de todas las regiones productoras del país, para fortalecer la aplicación de las buenas técnicas de manipulación del producto, de control de calidad, mostrando los beneficios, que se pueden alcanzar al mejorar los criterios de producción.

## CAPÍTULO VII

### BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, María. Et al. 2013. Determinación de la actividad antioxidante en mieles de tréboles y eucalipto mediante el método de reducción del catión férrico. Jornadas jóvenes Investigadores Tecnológico. Santa Fe, Argentina.

Avilés Pérez. Et al 2009. Análisis comparativo de la calidad fisicoquímica, microbiológica y organoléptica de la miel de abeja (*Apis mellifera*) producida en diferentes regiones de Perú. Revista de Investigación Universitaria. Vol. 1. No. 1: 5-11. Lima, Perú.

Aguirre F. Luis Et al. 2009. Libro rojo de fauna silvestre de vertebrados de Bolivia. Ministerio de medio ambiente y agua viceministerio de medio ambiente, biodiversidad y cambios climáticos. La paz – Bolivia.

Bachmann I. Hanile E. 2007. Estudios preliminares de caracterización de miel de abeja: determinación de carbohidratos por GC/MS y análisis enzimáticos. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias. Tesis de grado para licenciado en *bioquímica*. Valdivia, Chile.

Basilio Alicia M. Et al. 2003 Miel de *Scaptotrigona jujuyensis* en dos localidades de Formosa, Argentina. Facultad de farmacia y bioquímica. Mérida, Venezuela.

Benzie IFF, Strain JJ (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. Anal Biochem, 239, 70-76.

Borras Juan. 2009. Una herramienta para el control de calidad de mieles en función de los parámetros controlados en la recepción industrial. Universidad Politécnica de Valencia. Tesis para optar al grado de Master en ciencia de los alimentos. Valencia, España.

Castellanos Blanca p. Et al. 2012. Análisis del contenido polínico de mieles producidas por *Apis mellifera* en el estado de tabasco México. Tabasco, México.

Ciappini María. Et al.2009. Mieles de la provincia de santa fe (Argentina) determinación palinológica, sensorial y fisicoquímica, según provincias fitogeográficas. INVENIO 12 (22): 109-120. Argentina.

Ciappini María. Et al. 2013. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. Rev. Cienc. Tecnol. Año 15. No 19: 45-51. Argentina.

Combarros Fuentes P. Et al. 2013. Capacidad antioxidante de mieles españolas acogidas a marcas de calidad. Departamento de Higiene y tecnología de Alimentos. León, España.

Codex Stan 12-1981. Codex norma para miel de abeja.

Dardón M. José. Et al. 2008. Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (*meliponini*) de Guatemala. Inter ciencia Vol. 33. No12:916-922. San Carlos de Guatemala. Guatemala.

Davee Neeta. Et al. 2014. Effect of feeding honey on the serum antioxidant status of young females. Research Journal of pharmaceutical, biological and chemical Sciences, RJPBCS 5 (6): 637-645. Gujarat, India.

Diaz A. Rafael C. Et al. 1998. Determinación de algunos parámetros de calidad de la miel en la provincia de Huesca. Vol. 10: 107-122. Zaragoza, España.

Fredes C. Et al. 2006. Contenido de metales pesados y otros elementos traza en mieles de abeja en Chile. Santiago, Chile.

Figueroa Beatriz L. Et al. 2013. Validación de un método de determinación de fructosa, glucosa y sacarosa por cromatografía líquida de alta performance. Revista sns Vol. 1, No 2: 27-35. Argentina.

García P. Raquel. 2003. Estudio palinológico y colorimétrico de mieles monoflorales de la región de Murcia. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad Politécnica de Cartagena, Departamento de Producción Agraria. Tesis de grado. Cartagena, Colombia.

Gutiérrez María g. Et al. 2008. Caracterización de mieles de *melipona beecheii* y *melipona solani* de Guatemala. Rev. Fac. Farm. Vol. 50 (1): 2-6. Guatemala.

Gutiérrez María g. Et al. 2008. Miel de abejas: una fuente de antioxidantes. Fuerza Farmacéutica, Año 12, Vol. I – Enero. Mérida, Venezuela.

Hernández A. Luis S. (2013). Determinación del potencial nutracéutico y la actividad antioxidante de la miel propolizada elaborada por la empresa apicare, Riobamba-Chimborazo. Escuela superior politécnica de Chimborazo, Facultad de ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Tesis de grado para bioquímico farmacéutico. Riobamba, Ecuador.

Instituto Boliviano de Normalización y Calidad, Ilnorca. (2014). NB 38025:2014 azúcares y derivados - miel de abejas - determinación de cenizas.

Instituto Boliviano de Normalización y Calidad, Ilnorca. (2014). NB 38026:2014 azúcares y derivados - miel de abejas - determinación de la acidez libre.

Instituto Boliviano de Normalización y Calidad, Ilnorca. (2014). NB 38027:2014 azúcares y derivados - miel de abejas - determinación de humedad

Instituto Boliviano de Normalización y Calidad, Ilnorca. (2014). NB 38028:2014 azúcares y derivados - miel de abejas - determinación de pH

Instituto Boliviano de Normalización y Calidad, Ilnorca. (2014). NB 38029:2014 azúcares y derivados - miel de abejas - determinación de sólidos insolubles en agua.

Instituto Boliviano de Normalización y Calidad, Ilnorca. (2014). NB 38031:2014 azúcares y derivados - miel de abejas - determinación de hidroximetilfurfural.

Instituto Boliviano de Normalización y Calidad, Icnorca. (2014). NB 38032:2014 azúcares y derivados - miel de abejas - determinación de la actividad diastática.

Instituto Boliviano de Normalización y Calidad, Icnorca. (2014). NB 38035:2014 azúcares y derivados - miel de abejas - determinación del color

Instituto Boliviano de Normalización y Calidad, Icnorca. (2014). NB 38036:2014 azúcares y derivados - miel de abejas - determinación de la conductividad eléctrica.

Jauregui M. Ana M. Et al. 2014. Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. Revista Sociedad química del Perú 80 (4): 287- 301. Puno, Perú.

Kumul Roger c. Et al. 2015. Potencial antioxidante de la miel de *melipona beecheii* y su relación con la salud: una revisión. Nutr. Hosp. Vol. 32 (4): 1432-1442. Yucatán, México.

Laval M. Enrique.1953. Botica de los jesuitas de Santiago. Biblioteca de historia de la medicina en Chile. Santiago, Chile.

Leisnys Suescún. 2008. Control de calidad de la miel de abejas producida como propuesta para un proyecto de servicio comunitario obligatorio. Mérida, Venezuela.

León R. Virginia. 2013. Caracterización, determinación de vitaminas hidrosolubles y actividad antioxidante de mieles monoflorales de Castilla la Mancha. Universidad de Alcalá, Facultad de Biología, Ciencias ambientales y Química, Departamento de Química analítica, Química Física e Ingeniería Química. Tesis doctoral. Madrid, España.

Llaxacondor G. Andrés. 2006. Apicultura en los Andes. Problemática y posibilidades entre Perú, Ecuador y Bolivia.

López G. María. (2014). Influencia de los factores climáticos sobre el color y el perfil de antioxidantes en las mieles tabasqueñas. Colegio de postgraduados, Instituto de enseñanzas e investigaciones agrícolas, Programa producción agroalimentaria en el trópico. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias. Tabasco, México.

Mazariegos M. Ana I. 2006. 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. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Química Biológica. Tesis de grado. Sacatepequez, Guatemala.

Montenegro G. Et al. 2015. Origen botánico y propiedades químicas de las mieles de la región mediterránea árida de Chile. Revista de ciencia e investigación agraria. Vol.30, No. 3. Santiago, Chile.

Montenegro Susana B. Et al. 2016. Actividad enzimática en miel de *Apis mellifera*. Comunicaciones científicas y tecnológicas. Argentina.

Muñoz Orlando. Et al. 2007. Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante. *Quim. Nova*, Vol.30 No.4, 848-851. Santiago de Chile, Chile.

Muñoz Ana María. Et al 2014. Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. Puno, Perú.

Naranjo A. Wagner D. 2008. Caracterización reológica y térmica de miel de dos variedades de caña. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de ciencias e ingeniería en alimentos. Tesis para optar al grado de ingeniero en alimentos. Ambato, Ecuador.

Narváez T. Pamela R. 2013. Detección de polen convencional y genéticamente modificado de soya, *glycine max l.* en la miel de abeja, *Apis mellifera*, de los estados de Campeche y Yucatán. Universidad Nacional autónoma de México, Facultad de Ciencias. Tesis de gradopara obtener el título de biología. Ciudad de México, México.

Normas oficiales mexicanas, NOM (2004). Norma mexicana de miel, *alimentos / miel / especificaciones y metodos de prueba*.

Ordoñez M. Yolanda. Et al. 2005. Calidad fisicoquímica de la miel de Abeja *Apis mellifera* producida en el estado de Yucatán durante las diferentes etapas del proceso de producción y tipos de flores. *Tec. Pecu Mex* 43 (3): 323-334.

Patrigan Mariela. Et al. 2016. Color, cenizas y capacidad antioxidante de mieles de la provincia de buenos aires, argentina. *Revista de la facultad de Agronomía, La Plata, Volumen 115 (1): 77-82*.

Peñarrieta Mauricio, Alvarado Juan A., (2009). Total antioxidant capacity and content of phenolic compounds in wild strawberries (*fragariavesca*) collected in Bolivia. *International journal of fruit science*. 9:344-359.

Piccirillo g. a. Et al. 1998. Estudio de algunos parámetros fisicoquímicos en mieles cosechadas durante la época seca de ocho zonas apícolas del estado Zulia. Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* Vol. 15: 486-497. Zulia, Venezuela.

Re R. Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M and Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26, 1231-1237.

Rodríguez R. Beatriz A. 2012. Caracterización química y evaluación de las actividades antioxidante y antimicrobiana de mieles florales: naranjo, cactáceas y campanilla. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Tesis para optar al grado de doctor en ciencias de los alimentos. Querétaro, México.

Rodríguez de la Cruz David. Et al. 2013. Análisis palinológico de mieles comerciales monoflorales. Salamanca, España.

Sanz C. Susana. Et al. 1994. Índice de diastasa y contenido en hidroximetilfurfural en las mieles de la rioja. Zaragoza, España.

Sanz C. Susana. Et al. 1994. Humedad, cenizas y conductividad eléctrica de miel de la rioja. Vol. 12: 143-158. Zaragoza, España.

Simal lozano Jesús. 2016. parámetros de calidad de miel. Índice de diastasa. Santiago de Compostela, España.

Singleton L., Rossi J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid. Amer. J. Enol. Viticult. 16:144-58.

Soto V. Claudio E. 2008. Estudio de mieles monoflorales a través de análisis palinológico, físico, químico y sensorial. Universidad Austral de Chile, Facultad de ciencias agrarias, escuela de Agronomía. Tesis para optar al grado de licenciado en agronomía. Valdivia, Chile.

Spanos, G. A., and Wrolstad, R. E. 1990. A Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry 38, 1565-1571.

Subovsky Martha J. Et al. 2000. Determinación de los parámetros Físicoquímicos en miel de abeja de la provincia de corrientes. Universidad nacional del nordeste. Comunicación científica y tecnológica. Corrientes, Argentina.

Tanleque Alberto F. Análisis químico de Miel de Mozambique. Universidad Politécnica de Valencia, Instituto universitario de ingeniería de alimentos para el desarrollo, Título para optar al grado en Master en gestión de la seguridad y calidad alimentaria. Valencia, España.

Tamame María a. Et al. 2003. Miel monoflorales pampeanas de *condalia microphylla* cav. y *centaurea solstitialis* L. análisis melisopalínológicos relacionados con caracteres físicoquímicos. Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat. Vol 5 (2): 371-381 La Pampa. Argentina.

Terrab Anass. 2000. Melitopalínología y caracterización de mieles monoflorales en la zona occidental del norte de Marruecos. Universidad de Sevilla, Facultad de Biología, Departamento de Biología Vegetal y Ecología. Tesis doctoral. Sevilla, España.

Terrab Anass. 2003. Análisis polínico de mieles de los parques naturales de los alcornocales y sierra de Grazalema. Málaga, España.

Ureña V. Mauricio. Et al 2007. Evaluación de la posible adulteración de mieles de abeja comerciales de origen costarricense al compararlas con mieles artesanales provenientes de apiarios específicos. Archivo latinoamericano de nutrición. Vol. 57 No.1:63-70. Costa Rica.

Valle a. Et al. 2001. Miel de la región periserrana del sistema de ventania, Argentina. Invest. Agr. Vol. 16 (3): 343-354. Bahía Blanca, Argentina.

Vásquez S. Cristian I. 2010. Caracterización de mieles de San Pedro de Atacama basada en análisis físicos, químicos y melisopalínológicos. Universidad Austral de Chile, Escuela de Agronomía, Tesis licenciado en agronomía. Valdivia, Chile.

Vattuone Marta a. Et al. 2007. Compuestos fenólicos totales, flavonoides, prolina y capacidad captadora de radicales libres de mieles de tetragonisca angustula fiebrigi y de plebeia wittmanni. Boletín Latinoamericano del Caribe de plantas medicinales y aromáticas, Vol. 6, No. 5: 299-301. Santiago, Chile.

Villar M. 2015. Determinación de hidroximetilfurfural en mieles como parámetros indicadores de la calidad de las mismas. Proyecto jóvenes con investigadores. Sevilla. España.

Vit Patricia. Et al. 2008. Mieles checas categorizadas según su actividad antioxidante. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 42 (2): 237- 244. Mérida, Venezuela.

Vit Patricia. 2008. La miel precolombina de abejas sin aguijón (meliponini), aún no tiene normas de calidad. Boletín del centro de Investigaciones biológicas, Vol. 42. No. 3: 415-423. Maracaibo, Venezuela.

Vit Patricia. Et al. 2008. Control de calidad de la miel de abeja producida como propuesta para un proyecto de servicio comunitario obligatorio. Revista Facultad de Farmacia, Año 12 Vol. I: 6 -15. Mérida, Venezuela.

Vit Patricia. Et al. 2009. Valorización de la miel de abejas sin aguijón (meliponini). Revista Facultad de Farmacia 50 (2): 20 -28. Mérida, Venezuela.

Vit Patricia. 2013. Modificaciones comentadas de la norma miel de abejas, hacia la norma miel de Venezuela: inclusión de miel de pote y exclusión de mieles falsas. Revista Facultad de Farmacia. pp 1 -8. Mérida, Venezuela.

Viceministerio de Medio Ambiente, Biodiversidad, Cambios Climáticos y de Gestión y Desarrollo Forestal, 2014. Cuarto informe nacional convenio de las naciones unidas sobre la diversidad biológica. Ministerio de medio ambiente y agua. La paz, Bolivia.

Zandamela M. Eduarda M. 2008. Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique. Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Ciencias, Departamento de ciencias de los Alimentos. Tesis doctoral. Barcelona, España.

<http://blogs.periodistadigital.com/entrefutbolyvinos.php/2006/10/18/la-miel-de-abeja-en-la-concepcion-inca>

<http://guadanatur.es/expansion-de-las-abejas-europeas-en-america>

## Anexo A

### Determinación del contenido de humedad

Indice de Refracción (20°C) (293K)	Contenido de Humedad (%)	Indice de Refracción (20°C) (293K)	Contenido de Humedad (%)	Indice de Refracción (20°C) (293K)	Contenido de Humedad (%)
1,5044	13,0	1,4935	17,2	1,4830	21,4
1,5038	13,2	1,4930	17,4	1,4825	21,6
1,5033	13,4	1,4925	17,6	1,4820	21,8
1,5028	13,6	1,4920	17,8	1,4815	22,0
1,5023	13,8	1,4915	18,0	1,4810	22,2
1,5018	14,0	1,4910	18,2	1,4805	22,4
1,5012	14,2	1,4905	18,4	1,4800	22,6
1,5007	14,4	1,4900	18,6	1,4795	22,8
1,5002	14,6	1,4895	18,8	1,4790	23,0
1,4997	14,8	1,4890	19,0	1,4785	23,2
1,4992	15,0	1,4885	19,2	1,4780	23,4
1,4987	15,2	1,4880	19,4	1,4775	23,6
1,4982	15,4	1,4875	19,6	1,4770	23,8
1,4976	15,6	1,4870	19,8	1,4765	24,0
1,4971	15,8	1,4865	20,0	1,4760	24,2
1,4966	16,0	1,4860	20,2	1,4755	24,4
1,4961	16,2	1,4855	20,4	1,4750	24,6
1,4956	16,4	1,4850	20,6	1,4745	24,8
1,4951	16,6	1,4845	20,8	1,4740	25,0
1,4946	16,8	1,4840	21,0		
1,4940	17,0	1,4835	21,2		

## Anexo B

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

#### Análisis para Antioxidantes

##### ABTS

###### Estadísticos descriptivos

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Mínimo	32,490	17,520	7,700	21,450	12,460	9,960
Máximo	57,444	38,580	38,650	54,960	38,510	36,790
1° Cuartil	33,500	30,220	11,390	26,905	30,140	26,660
Mediana	37,530	32,070	27,810	34,000	34,685	27,490
3° Cuartil	45,290	33,070	34,170	36,960	35,483	31,310
Media	41,251	30,292	23,944	32,874	31,876	26,442
Varianza (n-1)	107,300	60,675	189,313	90,661	43,758	100,895
Desviación típica (n-1)	10,359	7,789	13,759	9,522	6,615	10,045

##### FRAP

###### Estadísticos descriptivos

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Mínimo	142,620	112,520	247,540	61,270	138,200	123,900
Máximo	477,960	251,410	690,680	535,800	267,090	245,100
1° Cuartil	173,350	196,780	250,200	177,090	179,075	175,010
Mediana	195,360	217,560	426,240	232,530	204,245	235,240
3° Cuartil	256,540	224,060	440,880	363,065	241,348	242,910
Media	249,166	200,466	411,108	267,547	206,216	204,432
Varianza (n-1)	18099,068	2798,065	32980,432	19795,702	1663,218	2858,658
Desviación típica (n-1)	134,533	52,897	181,605	140,697	40,783	53,466

##### ORAC

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Mínimo	12,213	9,213	15,457	9,558	13,039	9,847
Máximo	20,619	21,707	20,493	28,479	23,520	18,977
1° Cuartil	12,410	12,316	17,082	11,824	14,750	11,824
Mediana	14,899	16,671	18,422	15,562	17,168	11,912
3° Cuartil	15,274	20,736	20,186	19,002	18,729	15,628

Media	15,083	16,128	18,328	16,238	17,218	13,638
Varianza (n-1)	11,525	28,748	4,487	29,108	9,265	13,275
Desviación típica (n-1)	3,395	5,362	2,118	5,395	3,044	3,644

## Fenoles Totales

Estadísticos descriptivos

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Mínimo	69,620	69,110	115,040	55,860	69,670	61,940
Máximo	206,290	136,990	190,560	267,510	118,040	122,800
1° Cuartil	76,780	98,370	132,900	75,590	79,830	67,810
Mediana	84,290	108,970	142,580	98,700	89,800	73,070
3° Cuartil	119,730	109,430	151,650	132,515	101,993	122,030
Media	111,342	104,574	146,546	113,975	91,207	89,530
Varianza (n-1)	3188,137	597,472	789,463	3826,946	238,913	916,760
Desviación típica (n-1)	56,464	24,443	28,097	61,862	15,457	30,278

## Análisis de correlación para los parámetros de antioxidantes

Valores propios:

	F1	F2	F3	F4
Valor propio	2,127	1,109	0,552	0,212
Variabilidad (%)	53,167	27,731	13,803	5,300
% acumulado	53,167	80,897	94,700	100,000

Matriz de correlaciones (Pearson (n)):

Variables	ABTS	FRAP	(TPC)**	ORAC
ABTS	<b>1</b>	-0,142	0,250	-0,045
FRAP	-0,142	<b>1</b>	<b>0,690</b>	<b>0,517</b>
(TPC)**	0,250	<b>0,690</b>	<b>1</b>	<b>0,472</b>
ORAC	-0,045	<b>0,517</b>	<b>0,472</b>	<b>1</b>

Contribuciones de las variables (%):

	F1	F2	F3	F4
ABTS	0,129	86,786	2,020	11,066
FRAP	36,405	3,816	16,683	43,097
(TPC)**	35,774	7,268	11,124	45,834
ORAC	27,692	2,131	70,174	0,003

Cosenos cuadrados de las variables:

	F1	F2	F3	F4
ABTS	0,003	<b>0,963</b>	0,011	0,023
FRAP	<b>0,774</b>	0,042	0,092	0,091
(TPC)**	<b>0,761</b>	0,081	0,061	0,097
ORAC	<b>0,589</b>	0,024	0,387	0,000

Cosenos cuadrados de las observaciones:

	F1	F2	F3	F4
Vallegrande	<b>0,817</b>	0,162	0,020	0,001
Sucre	<b>0,874</b>	0,003	0,122	0,002
Aiquile	0,148	<b>0,771</b>	0,000	0,080
Mizque	0,046	0,432	<b>0,521</b>	0,001
Apolo	<b>0,875</b>	0,022	0,024	0,079
Padilla	0,117	0,001	<b>0,833</b>	0,049
Monteagudo	0,134	<b>0,730</b>	0,000	0,135
Huacareta	0,055	<b>0,734</b>	0,177	0,034
Entre Ríos	<b>0,658</b>	0,001	0,300	0,041
Entre Ríos	<b>0,583</b>	0,124	0,060	0,233
Camiri	<b>0,956</b>	0,014	0,024	0,006
Machareti	<b>0,480</b>	0,352	0,077	0,090
Muyupampa	0,313	<b>0,572</b>	0,082	0,033
Villa el Carmen	0,309	<b>0,599</b>	0,001	0,091
Villa Montes	0,000	0,306	<b>0,424</b>	0,270
Villa Abecia	<b>0,602</b>	0,343	0,026	0,030
Camargo	0,114	0,117	<b>0,659</b>	0,111
Vitichi	<b>0,461</b>	0,211	0,222	0,105
San Lucas	<b>0,685</b>	0,063	0,187	0,065
Puna	<b>0,821</b>	0,130	0,015	0,034
Tumúsla	<b>0,458</b>	0,119	0,376	0,047
Cotagaita	<b>0,870</b>	0,062	0,033	0,035
Tupiza	<b>0,782</b>	0,067	0,096	0,055
Incahuasi	<b>0,949</b>	0,030	0,011	0,009
Culpina	<b>0,552</b>	0,300	0,006	0,142
Quime	0,031	<b>0,954</b>	0,003	0,011
Santa Ana	0,068	0,013	<b>0,610</b>	0,309
Mururata	0,261	0,016	<b>0,723</b>	0,000
Cholla	0,301	0,004	<b>0,693</b>	0,002
Choro	<b>0,653</b>	0,105	0,240	0,002
Coripata	<b>0,915</b>	0,070	0,003	0,012
Chonta	<b>0,684</b>	0,050	0,266	0,000
Coroico	0,057	0,254	<b>0,604</b>	0,086

Pacallo	0,047	0,008	<b>0,920</b>	0,025
Chama	0,000	<b>0,975</b>	0,002	0,022
Sapecho	0,235	0,003	<b>0,426</b>	0,336
Caranavi	0,185	<b>0,432</b>	0,215	0,168
Camata	0,175	0,025	<b>0,731</b>	0,069
Mapiri	<b>0,462</b>	0,211	0,055	0,271
Villa Exaltación	<b>0,600</b>	0,300	0,004	0,096
Marimon	<b>0,530</b>	0,055	0,375	0,040
Inicua	<b>0,985</b>	0,003	0,011	0,001
Sillar	<b>0,884</b>	0,051	0,052	0,013
San buena Aventura	0,015	<b>0,893</b>	0,049	0,042
Ixiamas	0,041	<b>0,761</b>	0,003	0,195

Resultados por clase:

Clase	1	2	3	4
Objetos	4	28	10	3
Suma de los pesos	4	28	10	3
Varianza intraclase	5645,808	3163,884	3169,566	17872,257
Distancia mínima al centroide	28,662	12,943	10,272	19,935
Distancia media al centroide	60,734	49,103	38,243	95,126
Distancia máxima al centroide	94,625	133,291	140,798	140,385
	Vallegrande	Sucre	Padilla	Machareti
	Camiri	Aiquile	Huacareta	Muyupampa
	Villa Abecia	Mizque	Camargo	San Lucas
	Puna	Apolo	Tumúsla	
		Monteagudo	Santa Ana	
		Entre Ríos	Cholla	
		Entre Ríos	Coroico	
		Villa el Carmen	Pacallo	
		Villa Montes	Chama	
		Vitichi	Ixiamas	
		Cotagaita		
		Tupiza		
		Incahuasi		
		Culpina		
		Quime		
		Mururata		
		Choro		
		Coripata		
		Chonta		
		Sapecho		

Caranavi  
Camata  
Mapiri  
Villa Exaltación  
Marimon  
Inicua  
Sillar  
San buena  
Aventura

---

## Anexo C

### ANALISIS ESTADISTICO DE LOS PARAMETROS FISICOQUIMICOS

#### Ceniza

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	0,079	0,125	0,112	0,095	0,020	0,040
Máximo	0,528	0,223	0,342	1,536	0,353	0,446
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	0,106	0,178	0,126	0,120	0,063	0,066
Mediana	0,394	0,190	0,186	0,167	0,142	0,172
3° Cuartil	0,400	0,212	0,233	0,397	0,191	0,333
Media	0,301	0,186	0,200	0,423	0,146	0,211
Varianza (n-1)	0,039	0,001	0,009	0,257	0,011	0,030
Desviación típica (n-1)	0,198	0,038	0,093	0,507	0,105	0,175

#### Sólidos

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	2,190	2,341	2,264	2,108	2,225	2,228
Máximo	3,031	2,641	2,622	6,705	2,730	2,479
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	2,554	2,434	2,299	2,281	2,379	2,351
Mediana	2,673	2,453	2,322	2,365	2,439	2,420
3° Cuartil	2,741	2,587	2,401	2,935	2,487	2,468
Media	2,638	2,491	2,381	2,895	2,432	2,389
Varianza (n-1)	0,094	0,015	0,021	1,731	0,015	0,011
Desviación típica (n-1)	0,306	0,121	0,143	1,316	0,123	0,103

#### Conductividad

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5

Mínimo	250,300	129,800	280,450	117,150	138,450	135,000
Máximo	907,833	489,633	547,550	1575,000	454,750	538,150
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	258,650	271,000	282,450	244,875	225,275	184,650
Mediana	458,750	350,533	313,267	431,300	273,925	296,500
3° Cuartil	459,400	429,467	326,867	656,233	354,913	327,000
Media	466,987	334,087	350,117	559,252	283,839	296,260
Varianza (n-1)	71207,115	19818,893	12577,657	201168,328	8910,136	24479,339
Desviación típica (n-1)	266,847	140,780	112,150	448,518	94,394	156,459

## pH

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	3,630	3,867	4,070	3,835	3,757	3,840
Máximo	4,550	4,025	4,430	5,150	4,275	4,420
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	3,735	3,890	4,200	4,038	3,879	4,030
Mediana	4,215	3,927	4,207	4,250	4,015	4,070
3° Cuartil	4,373	3,967	4,335	4,589	4,138	4,340
Media	4,101	3,935	4,248	4,350	4,011	4,140
Varianza (n-1)	0,161	0,004	0,019	0,177	0,026	0,056
Desviación típica (n-1)	0,401	0,063	0,138	0,421	0,160	0,237

## Aw

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	13	13	13	13	13	13
Suma de los pesos	5	5	5	11	13	5
Mínimo	0,536	0,511	0,513	0,407	0,528	0,537
Máximo	0,594	0,580	0,643	0,605	0,622	0,615
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	0,539	0,531	0,564	0,507	0,563	0,572
Mediana	0,550	0,568	0,589	0,554	0,569	0,575
3° Cuartil	0,556	0,573	0,611	0,582	0,586	0,600
Media	0,555	0,552	0,584	0,536	0,575	0,580
Varianza (n-1)	0,001	0,001	0,002	0,004	0,001	0,001

Desviación típica (n-1)	0,023	0,030	0,049	0,065	0,026	0,030
----------------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

## Humedad

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	14,200	13,400	13,400	16,400	12,900	18,800
Máximo	22,800	22,800	27,300	27,800	24,300	21,500
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	17,100	16,800	14,400	18,700	16,125	19,300
Mediana	17,300	19,800	20,800	22,300	17,700	20,100
3° Cuartil	21,800	21,500	21,100	25,050	19,950	20,300
Media	18,640	18,860	19,400	22,064	18,036	20,000
Varianza (n-1)	12,793	14,358	32,065	16,879	9,022	1,070
Desviación típica (n-1)	3,577	3,789	5,663	4,108	3,004	1,034

## Color

Estadístico L*	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	34,633	29,930	23,028	28,383	36,838	40,278
Máximo	60,443	48,653	44,148	57,005	55,748	53,605
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	39,890	35,538	27,765	35,953	39,473	41,213
Mediana	46,883	37,795	36,843	42,495	44,946	45,175
3° Cuartil	54,128	43,080	40,890	49,575	47,470	50,898
Media	47,195	38,999	34,535	42,684	44,484	46,234
Varianza (n-1)	108,708	51,381	79,092	85,497	29,974	34,474
Desviación típica (n-1)	10,426	7,168	8,893	9,246	5,475	5,871

## a\*

Estadístico a*	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	-1,493	-2,768	1,885	-1,953	0,945	-1,293
Máximo	6,080	8,190	7,833	7,250	8,618	4,263
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	1,605	0,895	3,870	0,864	2,135	-1,148

Mediana	4,588	1,480	4,160	2,363	3,398	2,873
3° Cuartil	5,400	5,533	6,463	4,134	4,013	3,450
Media	3,236	2,666	4,842	2,503	3,778	1,629
Varianza (n-1)	9,904	18,199	5,431	8,701	5,382	7,010
Desviación típica (n-1)	3,147	4,266	2,330	2,950	2,320	2,648

**b\***

Estadístico b*	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	17,900	8,968	5,553	4,695	15,100	19,933
Máximo	35,980	28,760	30,673	33,115	34,205	27,603
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	19,823	13,853	8,790	12,129	21,323	23,363
Mediana	22,893	18,640	17,018	20,300	24,201	26,503
3° Cuartil	34,940	20,708	19,958	24,203	29,383	27,495
Media	26,307	18,186	16,398	18,837	25,043	24,979
Varianza (n-1)	73,120	55,533	98,080	68,216	37,082	10,904
Desviación típica (n-1)	8,551	7,452	9,904	8,259	6,090	3,302

## Acidez

Estadístico (AT)	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	29,204	18,757	31,391	11,039	20,215	20,195
Máximo	47,868	62,208	50,671	55,547	51,844	41,616
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	32,622	34,810	34,020	26,575	35,905	30,349
Mediana	41,842	44,841	40,204	42,989	42,560	31,013
3° Cuartil	46,629	46,667	43,533	49,478	48,985	37,177
Media	39,633	41,457	39,964	38,232	40,916	32,070
Varianza (n-1)	69,886	257,173	59,061	227,285	95,128	65,573
Desviación típica (n-1)	8,360	16,037	7,685	15,076	9,753	8,098

Estadístico (Libre)	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	23,965	16,917	30,513	9,400	17,377	18,795
Máximo	46,470	60,369	49,312	49,348	50,017	38,536

Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	31,703	31,011	32,181	23,495	33,366	26,311
Mediana	32,654	43,002	37,098	40,908	40,389	29,133
3° Cuartil	39,949	45,788	37,125	45,081	44,630	32,897
Media	34,948	39,417	37,246	34,131	38,249	29,134
Varianza (n-1)	73,545	267,331	54,153	189,617	91,177	54,354
Desviación típica (n-1)	8,576	16,350	7,359	13,770	9,549	7,373

Estadístico (Lac)	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	0,919	0,879	0,879	0,919	0,439	1,400
Máximo	9,188	3,799	6,434	7,875	6,198	4,280
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	1,398	1,839	1,359	1,980	0,920	1,880
Mediana	5,239	1,840	1,839	4,279	1,998	3,080
3° Cuartil	6,680	1,840	3,080	6,199	3,980	4,039
Media	4,685	2,039	2,718	4,101	2,667	2,935
Varianza (n-1)	12,387	1,140	4,986	5,991	4,229	1,630
Desviación típica (n-1)	3,520	1,068	2,233	2,448	2,056	1,277

### Análisis de correlación para los parámetros fisicoquímicos

Valores propios:

	F1	F2	F3	F4	F5
Valor propio	3,391	1,901	1,486	1,159	0,711
Variabilidad (%)	33,910	19,013	14,857	11,594	7,109
% acumulado	33,910	52,923	67,780	79,374	86,483

Matriz de correlación

Variables	Ceniza	Solidos I.	C E	pH	Aw	Humedad	L*	a*	b*	Acid. Total
Ceniza	<b>1</b>	0,103	<b>0,937</b>	<b>0,772</b>	0,054	0,165	-0,242	<b>0,375</b>	0,041	<b>0,315</b>
Solidos I.	0,103	<b>1</b>	0,159	0,095	-0,007	<b>0,362</b>	<b>-0,296</b>	0,018	<b>-0,326</b>	0,277
C E	<b>0,937</b>	0,159	<b>1</b>	<b>0,745</b>	0,092	0,078	<b>-0,342</b>	<b>0,458</b>	-0,040	<b>0,432</b>
pH	<b>0,772</b>	0,095	<b>0,745</b>	<b>1</b>	-0,096	<b>0,297</b>	-0,188	<b>0,303</b>	0,081	-0,003
Aw	0,054	-0,007	0,092	-0,096	<b>1</b>	0,001	-0,266	0,229	-0,012	<b>0,409</b>
Humedad	0,165	<b>0,362</b>	0,078	<b>0,297</b>	0,001	<b>1</b>	-0,014	0,008	0,071	0,075
L*	-0,242	<b>-0,296</b>	<b>-0,342</b>	-0,188	-0,266	-0,014	<b>1</b>	<b>-0,358</b>	<b>0,642</b>	<b>-0,404</b>
a*	<b>0,375</b>	0,018	<b>0,458</b>	<b>0,303</b>	0,229	0,008	<b>-0,358</b>	<b>1</b>	0,205	<b>0,497</b>
b*	0,041	<b>-0,326</b>	-0,040	0,081	-0,012	0,071	<b>0,642</b>	0,205	<b>1</b>	-0,126

Acid. Total	<b>0,315</b>	0,277	<b>0,432</b>	-0,003	<b>0,409</b>	0,075	<b>-0,404</b>	<b>0,497</b>	-0,126	<b>1</b>
-------------	--------------	-------	--------------	--------	--------------	-------	---------------	--------------	--------	----------

Contribuciones de las variables (%):

	F1	F2	F3	F4	F5
Ceniza	21,515	7,370	0,369	2,008	1,520
Solidos I.	3,153	9,116	19,025	13,929	10,323
C E	24,311	3,282	0,013	3,235	0,028
pH	14,881	13,373	5,774	1,381	3,722
Aw	1,871	7,506	21,023	6,598	49,339
Humedad	1,792	0,565	15,214	44,691	5,709
L*	9,783	21,464	0,320	5,986	0,299
a*	11,467	0,072	16,636	1,049	20,286
b*	0,643	28,414	12,008	14,833	1,768
Acid. Total	10,583	8,838	9,618	6,289	7,007

Cosenos cuadrados de las variables:

	F1	F2	F3	F4	F5
Ceniza	<b>0,730</b>	0,140	0,005	0,023	0,011
Solidos I.	0,107	0,173	<b>0,283</b>	0,161	0,073
C E	<b>0,824</b>	0,062	0,000	0,038	0,000
pH	<b>0,505</b>	0,254	0,086	0,016	0,026
Aw	0,063	0,143	0,312	0,076	<b>0,351</b>
Humedad	0,061	0,011	0,226	<b>0,518</b>	0,041
L*	0,332	<b>0,408</b>	0,005	0,069	0,002
a*	<b>0,389</b>	0,001	0,247	0,012	0,144
b*	0,022	<b>0,540</b>	0,178	0,172	0,013
Acid. Total	<b>0,359</b>	0,168	0,143	0,073	0,050

Cosenos cuadrados de las observaciones:

	F1	F2	F3	F4	F5
Vallegrande	<b>0,686</b>	0,011	0,001	0,212	0,018
Padilla	0,220	<b>0,473</b>	0,071	0,002	0,080
Monte Agudo	0,050	<b>0,473</b>	0,023	0,156	0,004
Huacareta	0,091	<b>0,240</b>	0,220	0,075	0,009
Camiri	0,056	<b>0,471</b>	0,021	0,046	0,313
Machareti	0,008	0,098	0,229	0,129	0,017
Villa el Carmen	0,005	0,331	0,002	<b>0,403</b>	0,132
Entre Ríos	<b>0,454</b>	0,014	0,113	0,329	0,021
Villa Abecia	<b>0,419</b>	0,129	0,057	0,105	0,105
Camargo	0,220	0,001	<b>0,356</b>	0,022	0,000
Sucre	<b>0,617</b>	0,000	0,024	0,000	0,115
Santa Ana	0,036	0,004	<b>0,618</b>	0,154	0,154
Mururata	0,203	<b>0,461</b>	0,099	0,160	0,033

Cholla	0,037	0,044	<b>0,597</b>	0,067	0,193
Choro	<b>0,785</b>	0,013	0,051	0,013	0,002
Coripata	<b>0,758</b>	0,058	0,018	0,085	0,019
Chonta	<b>0,599</b>	0,112	0,039	0,003	0,000
Coroico	0,043	<b>0,290</b>	0,199	0,135	0,051
Pacallo	0,065	0,044	<b>0,323</b>	0,161	0,144
Chama	<b>0,476</b>	0,020	0,104	0,030	0,217
Marimon	<b>0,499</b>	0,000	0,002	0,015	0,006
Inicua	<b>0,661</b>	0,000	0,050	0,000	0,181
Sillar	0,303	<b>0,389</b>	0,087	0,004	0,034
Sapecho	0,000	0,066	0,232	<b>0,400</b>	0,011
Caranavi	0,025	0,080	0,055	<b>0,265</b>	0,013
Villa Montes	0,033	0,023	0,019	<b>0,421</b>	0,135
San Lucas	<b>0,762</b>	0,094	0,000	0,113	0,002
Aiquile	0,066	0,367	0,058	0,037	<b>0,402</b>
Muyupampa	0,288	0,002	0,087	<b>0,444</b>	0,023
San Buenaventura	0,000	0,000	<b>0,401</b>	0,112	0,335
Ixiamas	<b>0,422</b>	0,153	0,007	0,033	0,302
Camata	0,149	0,002	0,269	0,019	<b>0,392</b>
Apolo	0,005	<b>0,452</b>	0,007	0,270	0,003
Mapiri	0,089	0,162	0,004	0,239	<b>0,331</b>
Villa Exaltación	0,013	<b>0,399</b>	0,180	0,231	0,001
Quime	0,019	0,166	0,177	0,036	<b>0,267</b>
Vitichi	0,021	<b>0,596</b>	0,144	0,000	0,024
Tumúsla	0,158	0,270	<b>0,338</b>	0,128	0,047
Cotagaita	0,314	0,103	<b>0,432</b>	0,085	0,001
Tupiza	0,271	0,116	<b>0,300</b>	0,037	0,095
Incahuasi	0,112	0,000	0,118	<b>0,541</b>	0,085
Culpina	0,079	0,131	<b>0,343</b>	0,020	0,076
Entre Ríos	<b>0,254</b>	0,241	0,170	0,149	0,070
Puna	<b>0,784</b>	0,135	0,016	0,018	0,000
Mizque	0,072	<b>0,608</b>	0,011	0,100	0,020

Resultados por clase:

Clase	1	2	3
Objetos	7	21	17
Suma de los pesos	7	21	17
Varianza intraclase	203987,500	9316,705	14870,683
Distancia mínima al centroide	13,029	8,462	7,534
Distancia media al centroide	344,854	80,943	100,314
Distancia máxima al centroide	763,657	193,095	215,856
	Vallegrande	Padilla	Machareti

Villa el Carmen	Monte Agudo	Entre Ríos
Villa Abecia	Huacareta	Camargo
Pacallo	Camiri	Sucre
San Lucas	Santa Ana	Choro
Muyupampa	Mururata	Coripata
Puna	Cholla	Chonta
	Coroico	Chama
	Sapecho	Marimon
	Caranavi	Inicua
	Villa Montes	Sillar
	Aiquile	Apolo
	San	
	Buenaventura	Vitichi
	Ixiamas	Cotagaita
	Camata	Tupiza
	Mapiri	Entre Ríos
	Villa Exaltación	Mizque
	Quime	
	Tumúsla	
	Incahuasi	
	Culpina	

---

## Anexo D

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA FRESCURA DE LA MIEL

#### Actividad de diastasa

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	5,536	11,091	14,285	10,101	19,484	6,158
Máximo	291,476	46,937	146,134	160,101	256,616	45,875
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	17,156	11,505	17,744	11,395	22,657	7,511
Mediana	28,439	16,482	21,274	19,031	57,709	15,053
3° Cuartil	85,166	23,511	26,342	24,380	86,221	23,647
Media	85,554	21,905	45,156	32,107	65,866	19,649
Varianza (n-1)	14186,800	220,919	3206,320	1923,808	3873,641	263,562
Desviación típica (n-1)	119,108	14,863	56,624	43,861	62,239	16,235

#### Hidroximetilfurfural

Estadístico	BSI	BBT	Chaco	Prepuna	Yungas	BAS
No. de observaciones	14	14	14	14	14	14
Suma de los pesos	5	5	5	11	14	5
Mínimo	0,639	1,139	0,374	1,600	1,755	2,681
Máximo	90,368	5,196	85,015	75,626	80,165	9,103
Frec. del mínimo	1	1	1	1	1	1
Frec. del máximo	1	1	1	1	1	1
1° Cuartil	6,168	2,402	0,669	2,905	3,938	3,687
Mediana	6,191	2,448	6,720	4,136	6,966	6,465
3° Cuartil	11,006	4,124	8,485	7,629	8,142	6,711
Media	22,874	3,062	20,252	11,264	11,340	5,729
Varianza (n-1)	1437,022	2,547	1323,600	462,028	399,396	6,588
Desviación típica (n-1)	37,908	1,596	36,381	21,495	19,985	2,567

#### Análisis de correlación para los parámetros de frescura de la miel

Valores propios:

F1            F2

Valor propio	1,868	0,132
Variabilidad (%)	93,396	6,604
% acumulado	93,396	100,000

Matriz de correlaciones (Pearson (n)):

Variables	A.D.	HMF
A.D.	<b>1</b>	<b>0,868</b>
HMF	<b>0,868</b>	<b>1</b>

Contribuciones de las variables (%):

	F1	F2
A.D.	50,000	50,000
HMF	50,000	50,000

Cosenos cuadrados de las variables:

	F1	F2
A.D.	<b>0,944</b>	0,056
HMF	<b>0,944</b>	0,056

Cosenos cuadrados de las observaciones:

	F1	F2
Vallegrande	<b>0,978</b>	0,022
Sucre	0,425	<b>0,575</b>
Aiquile	<b>0,996</b>	0,004
Mizque	<b>0,992</b>	0,008
Apolo	<b>0,911</b>	0,089
Padilla	<b>0,975</b>	0,025
Monte Agudo	<b>0,968</b>	0,032
Huacareta	<b>0,989</b>	0,011
Entre Ríos	<b>0,528</b>	0,472
Timboy	<b>0,984</b>	0,016
Camiri	<b>0,999</b>	0,001
Machareti	<b>0,994</b>	0,006
Muyupampa	<b>0,794</b>	0,206
Yacuiba	<b>0,898</b>	0,102
Villa Montes	<b>0,965</b>	0,035
Villa Abecia	<b>0,994</b>	0,006
Camargo	0,475	<b>0,525</b>
Vitichi	<b>0,780</b>	0,220
San Lucas	<b>0,931</b>	0,069
Puna	<b>0,944</b>	0,056
Tumúsla	<b>0,979</b>	0,021

Cotagaita	<b>0,957</b>	0,043
Tupiza	<b>0,706</b>	0,294
Incahuasi	<b>0,938</b>	0,062
Culpina	<b>0,985</b>	0,015
Quime	<b>0,931</b>	0,069
Santa Ana	<b>1,000</b>	0,000
Mururata	0,108	<b>0,892</b>
Cholla	0,278	<b>0,722</b>
Choro	0,207	<b>0,793</b>
Coripata	0,049	<b>0,951</b>
Chonta	0,396	<b>0,604</b>
Coroico	0,052	<b>0,948</b>
Pacallo	<b>0,999</b>	0,001
Chama	<b>0,994</b>	0,006
Sapecho	<b>0,930</b>	0,070
Caranavi	<b>0,872</b>	0,128
Camata	<b>0,989</b>	0,011
Mapiri	<b>0,914</b>	0,086
Villa Exaltación	0,336	<b>0,664</b>
Marimon	<b>0,946</b>	0,054
Inicua	<b>0,929</b>	0,071
Sillar	<b>0,617</b>	0,383
San buena Aventura	<b>0,801</b>	0,199
Ixiamas	<b>0,872</b>	0,128

Resultados por clase:

Clase	1	2	3	4
Objetos	30	11	2	2
Suma de los pesos	30	11	2	2
Varianza intraclase	47,887	381,969	559,136	97,615
Distancia mínima al centroide	1,114	0,984	16,720	6,986
Distancia media al centroide	6,183	16,593	16,720	6,986
Distancia máxima al centroide	12,559	24,990	16,720	6,986
	Vallegrande	Sucre	Aiquile	Yacuiba
	Mizque	Entre Ríos	Chama	Cotagaita
	Apolo	Camargo		
	Padilla	Mururata		
	Monte Agudo	Cholla		
	Huacareta	Choro		
	Timboy	Coripata		
	Camiri	Chonta		
	Machareti	Coroico		

Muyupampa	Villa
Villa Montes	Exaltación
Villa Abecia	Sillar
Vitichi	
San Lucas	
Puna	
Tumúsla	
Tupiza	
Incahuasi	
Culpina	
Quime	
Santa Ana	
Pacallo	
Sapecho	
Caranavi	
Camata	
Mapiri	
Marimon	
Inicua	
San buena	
Aventura	
Ixiamas	

---