



# **COLEGIO DE POSTGRUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

---

**CAMPUS CÓRDOBA**

**POSTGRADO EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA**

**SUSTENTABLE**

**ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE MIEL DE ABEJA DE LA ESPECIE  
*Scaptotrigona mexicana* DE LA ZONA CENTRO DE VERACRUZ, MÉXICO**

**LUZ ANEL LÓPEZ GARAY**

TESIS  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**AMATLÁN DE LOS REYES, VERACRUZ**

2015

**ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE MIEL DE ABEJA DE LA ESPECIE  
*Scaptotrigona mexicana* DE LA ZONA CENTRO DE VERACRUZ, MÉXICO**

La presente tesis titulada: “Análisis físico y químico de miel de abeja de la especie *Scaptotrigona mexicana* de la zona centro de Veracruz, México” realizada por la alumna: **Luz Anel López Garay** bajo dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:


MAESTRA EN CIENCIAS  
INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Adriana Contreras Oliva**

ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Fernando Carlos Gómez Merino**

ASESORA

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Libia Iris Trejo-Téllez**

ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Juan Manuel Zaldívar Cruz**

Amatlán de los Reyes, Veracruz. Septiembre de 2015

# ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE MIEL DE ABEJA DE LA ESPECIE *Scaptotrigona mexicana* DE LA ZONA CENTRO DE VERACRUZ, MÉXICO

Luz Anel López Garay, M. C.  
Colegio de Postgraduados, 2015

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar la miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*, de muestras provenientes de tres sitios en Veracruz, México: Cañada Blanca (CB; 18° 57' 10.5" LN, 96° 51' 40.4" LO, 787 m de altitud), Manuel León (ML; 18° 57' 10.4" LN, 96° 55' 40.4" LO, 650 m de altitud) y Fortín de las Flores (FF; 18° 54' 27.8" LN, 96° 57' 38.4" LO, 884 m de altitud); y durante dos años de muestreo: 2013 y 2014. Se midieron parámetros establecidos por la Comisión Internacional de la Miel (IHC), así como contenido de macro y micronutrientes, metales pesados, contenido de azúcares y vitamina C. Los valores de actividad de agua oscilaron entre 0.72 a 0.73 Aw, el color presentó valores de 72.11 hasta 128 mm Pfund, y la conductividad eléctrica varió de 0.0055 hasta 0.01 dS cm<sup>-1</sup>. Respecto al pH, éste varió de 4.64 a 4.81, la acidez titulable osciló entre 38.52 hasta 43.17 meq kg<sup>-1</sup>, los sólidos solubles de 71.1 a 71.98 °Bx y el hidroximetilfurfural de 2.81 a 3.45 meq kg<sup>-1</sup>. El macronutriente más abundante fue potasio, con valores de 72 a 94.3 mg kg<sup>-1</sup>, y de los micronutrientes determinados, fue el sodio el más abundante, con concentraciones de 21 a 25 mg kg<sup>-1</sup>. Respecto a los metales pesados el aluminio fue mayor en una concentración de 3.97 a 8.11 mg kg<sup>-1</sup>. El contenido de vitamina C se presentó en mayor abundancia en las muestras provenientes de FF, con una concentración de 1.1 mg mL<sup>-1</sup>, respecto a los azúcares la sacarosa se presentó con una concentración de 6.20 g g<sup>-1</sup> de miel en la muestra proveniente de ML. Se observó que las mieles analizadas son de buena calidad debido a que todas entran dentro de los parámetros de estándares internacionales. Respecto al lugar de muestreo se observó que las muestras pertenecientes a FF presentaron mejores valores para conductividad eléctrica, pH, acidez y color, variables se encuentran correlacionadas con el contenido nutricional. Las muestras de las localidades de ML y CB también presentaron valores aceptables para la mayor parte de los parámetros medidos, aunque en general, fueron más bajos que los reportados para las muestras de FF. Respecto al año de muestreo se observa que los valores físicos y químicos más aceptables, así como para los minerales determinados, fueron para el año 2013; respecto a vitamina C hubo una mayor concentración en 2014 y referente a los azúcares no se observó diferencia entre años. Con este trabajo ha sido posible ofrecer indicadores de calidad de muestras de miel de abejas sin aguijón para el caso de México. Se mostró que el lugar y el año de muestreo pueden influir en la calidad de las mieles. En todo caso, las mieles de *Scaptotrigona mexicana* son de buena calidad. **Palabras clave:** Meliponicultura, abejas meliponas, calidad de miel, HPLC, ICP-OES.

# PHYSICAL AND CHEMICAL ANALYSES OF *Scaptotrigona mexicana* HONEY FROM CENTRAL VERACRUZ, MEXICO

Luz Anel López Garay, M. Sc.  
Colegio de Postgraduados, 2015

## ABSTRAC

This study aimed to characterize the honey produced by the stingless bee of the species *Scaptotrigona mexicana*, of samples coming from three sites in Veracruz, Mexico: Cañada Blanca (CB; 18° 57' 10.5" LN, 96° 51' 40.4" LO, 787 m), Manuel León (ML; 18° 57' 10.4" LN, 96° 55' 40.4" LO, 650 m) and Fortín de las Flores (FF; 18° 54' 27.8" LN, 96° 57' 38.4" LO, 884 m), during two sampling years: 2013 and 2014. Parameters considered by the International Honey Commission (IHC) were measured, as well as the macro and micronutrient content, heavy metals, sugar and vitamin C content. Water activity values varied between 0.72 and 0.73 Aw, honey color showed values between 72.11 and 128 mm Pfund, and electric conductivity varied between 0.0055 to 0.01 dS cm<sup>-1</sup>. Regarding pH, it varied from 4.64 to 4.81, titratable acidity was from 38.52 to 43.17 meq kg<sup>-1</sup>, total soluble sugars varied between 71.1 and 71.98 °Bx, while hydroxymethylfurfural varied from 2.81 to 3.45 meq kg<sup>-1</sup>. Potassium was the most abundant macronutrient, with values between 72 to 94.3 mg kg<sup>-1</sup>, while sodium was the most abundant micronutrient, with concentrations between 21 and 25 mg kg<sup>-1</sup>. Concerning heavy metals, aluminum was the most abundant, with concentrations between 3.97 and 8.11 mg kg<sup>-1</sup>. Vitamin C content was higher in samples coming from FF, with an average concentration of 1.1 mg mL<sup>-1</sup>. For the sugars sucrose was presented with a concentration of 6.20 g g<sup>-1</sup> honey in the sample from ML. It was observed that honey samples are of good quality, since all parameters measured were in accordance with international standards. In relation to sampling sites, it was observed that samples coming from FF showed higher values for electric conductivity, pH, titratable acidity and color, which are directly related with nutrient content of honey. Samples coming from ML and CB showed acceptable values for most variable measured, though in general, those values were lower in comparison to values found in samples from FF. For the year of sampling shows that the most acceptable physical and chemical values, as well as minerals were for 2013, compared to vitamin C concentration was greater in 2014 and concerning sugars no difference was observed between years. With this study it was possible to present indicators of quality of honey samples produced by stingless bees. In general, honey produced by *Scaptotrigona mexicana* bees proved to be of good quality.

**Keywords:** Meliponiculture, melipona bees, honey quality, HPLC, ICP-OES.

## DEDICATORIA

### *A Díos*

*Por el hermoso regalo de la vida y siempre guiar mis pasos.*

### *A mis padres Juan Pedro y María Elena*

*“A veces sentimos que lo que hacemos es tan solo una gota en el mar, pero el mar sería menos si le faltara una gota” (Madre Teresa de Calcuta). Gracias por ser unos maravillosos padres y seres humanos. Sin ustedes me hubiera costado llegar a mi meta. Cada palabra ha sido cimiento en mi formación. Los amo papis.*

### *A mi hermana Gína*

*“Hermana, como las ramas de un árbol, crecemos en distintas direcciones pero nuestra raíz continúa siendo la misma. Así la vida de cada una siempre será una parte fundamental de la otra” (Anónimo). Gracias hermosa por nunca dejarme y por más lejos que yo quiera partir, siempre estás a mi lado, cada consejo tuyo me ha ayudado para lograr cada una de mis metas. TE AMO HERMOSA.*

*A mí cuñís Javier*

*Borraré de mi vocabulario palabras como "abandonar la idea", "no puedo", "irrealizable", "sin esperanza", etc..., porque son palabras de personas que no tienen fe ni en sí mismas, ni en Dios (Og Mandino), palabras que siempre me has nombrado. Gracias por ser parte de mi formación y por siempre estar ahí en las buenas y malas.*

*A las familias López y Garay, por su apoyo y siempre tener palabras de aliento, en especial a mí hermoso Martín mi gran ejemplo de vida y esfuerzo por avanzar cada día y saber que a diario se nos da una nueva oportunidad y no debemos desaprovecharla.*

*A mis amigos y compañeros*

*“El éxito llega a quienes están dispuestos a trabajar un poco más duro que el resto” (Og Mandino). Rosario, Luz, Francisco, Eutiquio, Joaquín, Axel, Vianey, Baltazar, Sonia, Gloria, Mago, Ángeles, Casildo, Nadia, Susan, Araceli, Mariel, Horacio por su apoyo y tantos momentos compartidos.*

## AGRADECIMIENTO

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por brindar el apoyo para el desarrollo de mi maestría a través de la beca No. 554010.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba y Campus Montecillo, al Laboratorio de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y al Laboratorio de Nutrición Vegetal por abrir las puertas de sus instalaciones para el desarrollo de mi trabajo.

A la Línea Prioritaria de Investigación 12 en *Agregación de Valor* del Colegio de Postgraduados, por las facilidades y apoyo brindado para el desarrollo de esta investigación.

A la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento 1 en *Eficiencia y sustentabilidad en la producción primaria en sistemas agroalimentarios* y 2 en *Innovación y desarrollo de procesos agroalimentarios para el bienestar social* del programa de Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable del Campus Córdoba, por los apoyos para la realización de esta investigación.

A la Dra. Adriana Contreras Oliva por su amistad y apoyo durante mi desarrollo en la maestría.



A la Dra. Libia I. Trejo-Téllez por su invaluable apoyo y dedicación para la realización de mi trabajo y cada uno de los consejos brindados; así como el no escatimar en lo necesario para este trabajo.

Al Dr. Fernando Carlos Gómez Merino por sus valiosos consejos, tiempo y apoyo brindado durante el desarrollo de mi trabajo.

Al Dr. Juan Manuel Zaldívar Cruz por su atención en la elaboración de mi trabajo.

Al Dr. Juan Antonio Pérez Sato por facilitar la obtención del material biológico y la información necesaria de la zona.

A todo el personal del COLPOS con quien tuve el agrado de tratar, en especial a Erika por apoyarme en la realización de mis análisis físicos y químicos y a todos aquellos quienes por el camino me brindaron una sonrisa.

A la Línea Prioritaria de Investigación 9 Geomática Aplicada al Estudio y Manejo de los Recursos Naturales y Sistemas Agropecuarios, por abrir las puertas de sus instalaciones para el desarrollo de parte de este trabajo.

A la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), por el apoyo brindado en la información para el desarrollo de esta investigación.

## CONTENIDO

RESUMEN.....	ii
ABSTRAC .....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1 Descripción de los componentes de la miel de abeja.....	1
Carbohidratos .....	1
Agua .....	2
Enzimas.....	3
Proteínas y aminoácidos.....	5
Ácidos orgánicos .....	5
Vitaminas y minerales .....	6
Abejas .....	7
2 Producción de miel.....	8
3 Métodos de análisis de la miel.....	12
Literatura citada.....	13
<b>CAPÍTULO 1. Caracterización física y química de miel de abeja sin aguijón (<i>Scaptotrigona mexicana</i>) proveniente de Veracruz, México .....</b>	<b>16</b>
RESUMEN.....	16
ABSTRAC .....	17
1.1 Introducción.....	18
1.2 Materiales y Métodos.....	22
1.2.1 Elaboración de Mapas .....	22
1.2.2 Material Biológico.....	22
1.2.3 Análisis físicos y químicos de las muestras de miel .....	23
1.2.3.1 Actividad acuosa (aw) .....	23
1.2.3.2 Color .....	23
1.2.3.3 Conductividad Eléctrica .....	23
1.2.3.4 Hidroximetilfurfural.....	23
1.2.3.5 Grados Brix .....	24
1.2.3.6 Acidez Libre, Lactona, Acidez Total y pH.....	24
1.2.3.7 Análisis Estadístico .....	24
1.3 Resultados y Discusión .....	25

1.3.1. Características de los sitios de muestreo y mapas de distribución .....	25
1.3.2. Caracterización física y química de la miel.....	32
1.4 Conclusión.....	44
Literatura citada.....	45
<b>CAPÍTULO 2. Análisis elemental de miel de abeja de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> en la zona centro del estado de Veracruz .....</b>	<b>49</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>49</b>
<b>ABSTRAC .....</b>	<b>50</b>
2.1 Introducción.....	51
2.2 Materiales y métodos .....	53
2.2.1 Muestras de miel.....	53
2.2.2 Análisis nutrimental.....	53
2.2.3 Análisis de nitrógeno soluble total.....	54
2.2.4 Análisis de resultados.....	54
2.3 Resultados y discusión.....	54
2.3.1 Efecto principal del año de muestreo (AM).....	57
2.3.2 Efecto principal del sitio de muestreo (SM).....	60
2.3.3 Efecto de la interacción del año (AM) y sitio de muestreo (SM).....	62
2.4 Conclusiones .....	66
Literatura citada.....	67
<b>CAPÍTULO 3. Análisis Cromatográfico de Miel de Abeja <i>Scaptotrigona mexicana</i> .....</b>	<b>70</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>70</b>
<b>ABSTRAC .....</b>	<b>71</b>
3.1 Introducción .....	72
3.2 Materiales y métodos.....	73
3.2.1 Material Biológico.....	73
3.2.2 Determinación de vitamina C por HPLC.....	73
3.2.3 Determinación de azúcares por HPLC .....	74
3.2.4 Análisis de resultados.....	75
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	75
3.3.1 Determinación de vitamina C por HPLC.....	75
3.3.2 Determinación de azúcares por HPLC .....	80
3.4 Conclusión .....	86
Literatura citada.....	87

## LISTA DE CUADROS

### Introducción general

<b>Cuadro 1</b>	Producción mundial de miel en diferentes regiones del mundo en el año 2013.	8
<b>Cuadro 2</b>	Producción nacional de miel de abeja en el 2014.	9
<b>Cuadro 3</b>	Producción de miel para el distrito de Fortín de las Flores, Veracruz en el año 2013	10

### Capítulo 1

<b>Cuadro 1.1</b>	Escala de color para miel de abeja.	20
<b>Cuadro 1.2</b>	Significancia estadística de los factores de estudio y su interacción en las variables físicas y químicas realizadas en mieles de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	32
<b>Cuadro 1.3</b>	Efectos principales de factores de estudio y de interacción en la actividad acuosa (aw) y la concentración de 5- hidroximetilfurfural en mieles de sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	34

### Capítulo 2

<b>Cuadro 2.1</b>	Efectos principales de factores de estudio y de interacción en la concentración de minerales en muestras de miel de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> , colectada en diferentes sitios y años de muestreo.	57
-------------------	--	----

<b>Cuadro 2.2</b>	Efectos de interacción del año y sitio de muestreo en concentración elemental (en mg kg <sup>-1</sup> , excepto N que está expresada en mg 100 g <sup>-1</sup> ) en miel de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	66
-------------------	---	----

### Capítulo 3

<b>Cuadro 3.3.2.1</b>	Efectos principales de factores de estudio y de interacción en la concentración de minerales en muestras de miel de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	85
<b>Cuadro 3.3.2.2</b>	Efecto principal del sitio de muestreo en la concentración de azúcares de acuerdo al sitio de muestreo en miel de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	86
<b>Cuadro 3.3.2.3</b>	Efecto principal del año de muestreo en la concentración de azúcares de acuerdo a la fecha de muestreo en miel de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	86
<b>Cuadro 3.3.2.4</b>	Efecto de la interacción de los factores de estudio en la concentración de azúcares de acuerdo a la fecha de muestreo en miel de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	87

## LISTA DE FIGURAS

### Introducción general

<b>Figura 1</b>	Desdoblamientos de la sacarosa en glucosa y fructosa.	1
<b>Figura 2</b>	Evaporación del agua de la miel.	3
<b>Figura 3</b>	Enzimas que intervienen en el desdoblamiento de la miel.	4
<b>Figura 4</b>	Estructura de la prolina, aminoácido más abundante en la miel.	5
<b>Figura 5</b>	Formación del ácido glucónico a partir de la glucosa.	6

### Capítulo 1

<b>Figura 1.1</b>	Imagen de satélite LANDSAT de la zona de estudio ubicada en los municipios de Amatlán de los Reyes y Fortín de las Flores, Veracruz, México.	26
<b>Figura 1.2</b>	Distancia promedio de recorrido de las abejas sin aguijón de la zona de estudio ubicada en los municipios de Amatlán de los Reyes y Fortín de las Flores, Veracruz, México.	27
<b>Figura 1.3</b>	Uso de suelo y vegetación de la zona de estudio ubicada en los municipios de Amatlán de los Reyes y Fortín de las Flores, Veracruz, México.	29
<b>Figura 1.4</b>	Tipo de suelo en la zona de estudio ubicada en los municipios de Amatlán de los Reyes y Fortín de las Flores, Veracruz, México.	30
<b>Figura 1.5</b>	Rangos de temperatura de la zona de estudio ubicada en los municipios de Amatlán de los Reyes y Fortín de las Flores, Veracruz, México.	31

<b>Figura 1.6</b>	Efecto principal del lugar (A), año de muestreo (B) y su interacción (C) en el color de mieles de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	36
<b>Figura 1.7</b>	Efecto principal del lugar (A), año de muestreo (B) y su interacción (C) en la conductividad eléctrica de mieles de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	39
<b>Figura 1.8</b>	Efecto principal del lugar (A), año de muestreo (B) y su interacción (C) en los °Brix de mieles de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	41
<b>Figura 1.9</b>	Efecto principal del lugar (A), año de muestreo (B) y su interacción (C) en el pH de mieles de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	43

## Capítulo 2

<b>Figura 2.1</b>	Efecto principal del año de muestreo en la concentración de elementos. Concentraciones menores a 2.4 mg kg <sup>-1</sup> (A), concentraciones menores a 47 y mayores a 4.5 mg kg <sup>-1</sup> (B) y concentraciones menores a 250 y mayores a 50 mg kg <sup>-1</sup> (C) en miel de la abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	60
<b>Figura 2.2</b>	Efecto principal del año de muestreo en la concentración de elementos. Concentraciones menores a 2.4 mg kg <sup>-1</sup> (A), concentraciones menores a 47 y mayores a 4.5 mg kg <sup>-1</sup> (B) y concentraciones menores a 250 y mayores a 50 mg kg <sup>-1</sup> (C) en miel de la abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	63

### Capítulo 3

<b>Figura</b> <b>3.3.1.1</b>	Cromatograma de muestra de miel de abaja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> del sitio Cañada Blanca cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).	78
<b>Figura</b> <b>3.3.1.2</b>	Cromatograma de muestra de miel de abaja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> del sitio Fortín de las Flores cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).	78
<b>Figura</b> <b>3.3.1.3</b>	Cromatograma de muestra de miel de abaja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> del sitio Manuel León cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).	79
<b>Figura</b> <b>3.3.1.4</b>	Efecto principal del año de muestreo en la concentración de vitamina C en miel de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	80
<b>Figura</b> <b>3.3.1.5</b>	Efecto principal del sitio de muestreo en la concentración de vitamina C en miel de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	81
<b>Figura</b> <b>3.3.1.6</b>	Efecto de la interacción del año y sitio de muestreo en la concentración de miel de abeja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> .	82
<b>Figura</b> <b>3.3.2.1</b>	Cromatograma de muestra de miel de abaja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> del sitio Manuel León cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).	83
<b>Figura</b> <b>3.3.2.2</b>	Cromatograma de muestra de miel de abaja sin aguijón de la especie <i>Scaptotrigona mexicana</i> del sitio Fortín de las Flores cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).	83



**Figura** Cromatograma de muestra de miel de abaja sin agujón de la especie *Scaptotrigona mexicana* del sitio Cañada Blanca cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).

84

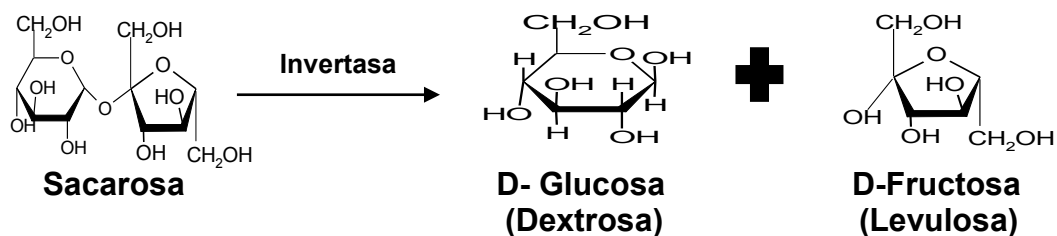
## INTRODUCCIÓN GENERAL

La miel es una sustancia dulce natural producida por las abejas a partir del néctar de las flores o de otras partes vivas de la planta y de las secreciones de insectos, que las abejas recogen, transforman, combinan con sustancias específicas propias y almacenan en panales (Saínz-Laín y Gómez-Ferreras, 2000). Dentro de los componentes que constituyen la miel se encuentran los carbohidratos, el agua, enzimas, proteínas, aminoácidos, ácidos orgánicos, vitaminas y minerales.

### 1 Descripción de los componentes de la miel de abeja

#### Carbohidratos

La sacarosa contenida en la miel es desdoblada en glucosa (conocida de igual forma como dextrosa) y fructosa (también llamada levulosa), que son azúcares simples, como se muestra en la **Figura 1**. Este proceso de desdoblamiento es catalizado por acción de la enzima, invertasa (también llamada sacarasa-isomaltasa o  $\alpha$ -glucosidasa) presente en la saliva de las abejas. Éstas, al llegar a la colmena, transfieren el néctar a otras abejas, mismas que lo expulsan junto con su saliva (agregando más invertasa) en las celdas de los panales destinados a su almacenamiento (Ulloa *et al.*, 2010).



**Figura 1** Desdoblamiento de la sacarosa en glucosa y fructosa.

Dependiendo de las plantas que las abejas visiten, algunos tipos de miel son más susceptibles a la cristalización que otros. De forma general, casi todos los tipos de miel se cristalizan si la temperatura se estabiliza entre 15 y 24 °C. La cristalización es un proceso natural; no hay diferencias de valor nutricional entre la miel sólida y la líquida (FAO, 2005).

Los métodos de análisis actualmente utilizados para separación, identificación y cuantificación de carbohidratos son: cromatografía de gas (GC), cromatografía líquida de alta precisión (HPLC) y en menor medida, electroforesis capilar (CE). Debido a que son compuestos altamente polares, muy hidrofílicos y muy poco volátiles, antes de ser analizados por métodos de cromatografía de gas, los carbohidratos deben ser convertidos en sus derivados volátiles estables, como derivados trimetilsilil o acetato. Por esta razón, se utilizan con mayor frecuencia las técnicas de HPLC (Cheng *et al.*, 2006).

## **Agua**

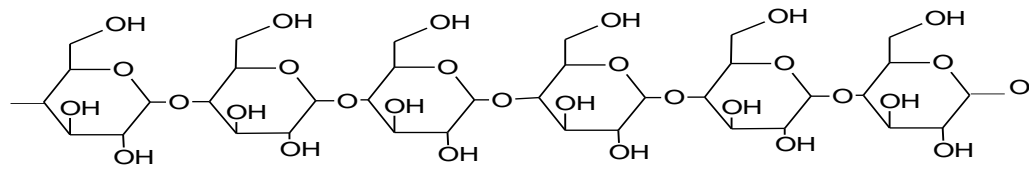
La miel tiene una parte importante de agua, en un intervalo normal que va del 14.5 al 18.5 %. En este porcentaje no ocurre fermentación, pero si la cantidad de agua supera el 23 %, si puede fermentar (FAO, 2005). De forma natural en la colmena ocurre el fenómeno de evaporación, donde el calor que se genera en el panal por el movimiento de las abejas provoca la evaporación del agua del néctar; quedando por último la miel (**Figura 2**).



**Figura 2** Evaporación del agua de la miel.

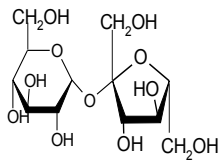
## Enzimas

La enzima más importante de la miel es la invertasa o  $\alpha$ -glucosidasa, ya que es la responsable de muchos de los cambios que ocurren en la miel. En la **Figura 3** se observa la reacción de esta enzima. La invertasa convierte el disacárido sacarosa de la miel en sus constituyentes monosacáridos fructosa y glucosa (Kotwal y Shankar, 2009). Otras enzimas presentes en la miel son la glucosa oxidasa, la cual cataliza una reacción donde la glucosa forma peróxido de hidrógeno, responsable en gran parte de la propiedad antibacteriana de la miel. La catalasa (Weston, 2000) es la responsable de convertir el peróxido de hidrógeno a oxígeno y agua. Otra de las enzimas contenidas en la miel es la ácido fosfatasa que es la responsable de degradar el almidón. La diastasa se usa como indicador de aplicación de calor a la miel; un bajo contenido de ésta es un indicador de miel vieja (Alonso-Torre *et al.*, 2008).



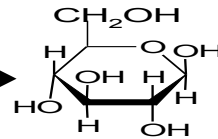
**Almidón**

**Diastasa**

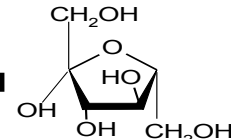


**Sacarosa**

**Invertasa**

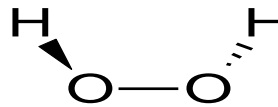


**D- Glucosa  
(Dextrosa)**



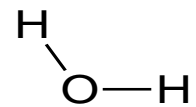
**D- Fructosa  
(Levulosa)**

**Glucosa  
oxidasa**



**Peróxido de hidrógeno**

**Catalasa**

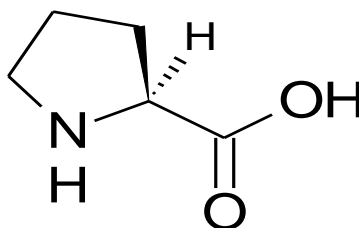


**Agua**

**Figura 3** Enzimas que intervienen en el desdoblamiento de la miel.

## Proteínas y aminoácidos

La miel contiene aproximadamente 0.5 % de proteínas, principalmente como enzimas y aminoácidos (Bogdanov et al., 2008). Los niveles de aminoácidos y proteína en la miel son el reflejo del contenido de nitrógeno, el cual es variable y no supera el 0.04 %. Entre el 40-80 % del nitrógeno total de la miel es proteína. En la miel se han encontrado entre 11 y 21 aminoácidos libres, de los cuales la prolina (**Figura 4**) representa alrededor de la mitad del total. Además de este, también se ha encontrado el ácido glutámico, alanina, fenilalanina, tirosina, leucina e isoleucina se presentan en niveles mayores. Los aminoácidos reaccionan con algunos de los azúcares para producir sustancias amarillas o cafés responsables del oscurecimiento de la miel durante su almacenamiento (Ulloa *et al.*, 2010).



**Figura 4** Estructura de la prolina, aminoácido más abundante en la miel.

## Ácidos orgánicos

El ácido orgánico más común en la miel es el ácido glucónico. Éste es producido por la acción de la enzima glucosa oxidasa sobre la dextrosa de la miel, otorgando a la miel un pH de 3.4 a 6.1. Este ácido se origina de la glucosa a través de la acción de la enzima glucosa oxidasa añadida por las abejas, como se muestra en la **Figura 5**. El

efecto sinérgico de su acidez y el peróxido de hidrógeno, ayudan a la conservación de la miel.



**Figura 5** Formación del ácido glucónico a partir de la glucosa.

### Vitaminas y minerales

La cantidad de vitaminas en la miel y su contribución a la dosis diaria recomendada de este tipo de nutrientes poco significativa. El contenido mineral de la miel es altamente variable, de 0.02 a 1.0 %, siendo el potasio cerca de la tercera parte de dicho contenido; la cantidad de potasio excede 10 veces a la de sodio, calcio y magnesio. Los minerales menos abundantes en la miel son hierro, manganeso, cobre, cloro, fósforo, azufre y sílice (Ulloa *et al.*, 2010).

La importancia de los minerales en la miel radica en que pueden ser indicadores del origen geográfico de la misma y de la contaminación de la zona (González-Paramás *et al.*, 2000). También existen estudios que indican que se podría determinar el espectro polínico o el origen botánico de las mieles con un análisis estadístico o quimiométrico de su contenido mineral (Radovic *et al.*, 2001).

## **Abejas**

Las abejas sin aguijón (Familia Apidae, Tribu Meliponini), son abejas muy sociables, de manejo muy sencillo, y la miel que producen es muy valorada porque se emplea popularmente para el tratamiento de diversas enfermedades respiratorias, dermatológicas y gastrointestinales (Vit *et al.*, 2004), lo que incrementa su valor frente a la miel de la abeja europea (*Apis mellifera* L.) (Enriquez *et al.*, 2005). Teniendo en cuenta el número de posibles fuentes florales, es comprensible que la miel de diferentes regiones, no sea completamente igual; su composición varía dependiendo de muchos factores, como la especie de abeja, la fuente de polen, el clima, el medio ambiente, y el tratamiento que sufre desde la producción hasta la comercialización (Viuda-Martos *et al.*, 2008), lo que puede afectar la presencia y cantidad de diferentes compuestos de interés nutracéutico.

Una característica notoria del grupo de las abejas sin aguijón, comparado con las abejas melíferas, es precisamente la gran diversidad de especies que difieren no solo en su morfología, sino también en sus hábitos de anidación y de alimentación, de tal forma que dentro de una comunidad existen especies que ocupan nichos ecológicos distintos para evitar competencia entre ellas. A pesar de tales diferencias, todas las abejas sin aguijón o meliponinos poseen características anatómicas que las ubican dentro de un mismo grupo (Quezada Euán, 2005).



## 2 Producción de miel

La producción mundial de miel es del orden de un millón de toneladas. El principal continente productor es Asia, seguido por Europa y en tercer lugar América. El **Cuadro 1** aporta datos sobre la producción de miel en el mundo en el año 2013. Los datos proceden de la FAO y se clasifican en grupos geográficos según criterio de la organización (FAO, 2015).

**Cuadro 1** Producción mundial de miel en diferentes regiones del mundo en el año 2013.

<b>Grupo geográfico</b>	<b>Toneladas (miles)</b>
África	169,306
América	332,309.51
Asia	760,796.70
Europa	372,122.52
Oceanía	29,263

Fuente: FAO, 2015.

La producción nacional de miel para el año 2014 fue de 350,230 toneladas, de acuerdo al SIAP, en el **Cuadro 2**, se presenta la producción para ese año donde se observa que el estado de Veracruz ocupa el cuarto lugar con una producción de 29,052 toneladas, después de Yucatán con 75,895 toneladas, Campeche 62,942 toneladas y Chiapas con 33.098 toneladas (SIAP, 2015).

**Cuadro 2** Producción nacional de miel de abeja en el 2014.

PRODUCCIÓN DE MIEL 2014					
Estado	* Producción (t)	**Precio por kg	Estado	* Producción (t)	**Precio por kg
Aguascalientes	551	40.00	Morelos	5,439	39.00
Baja California	202	38.00	Nayarit	1,637	36.00
Baja California Sur	1,405	38.00	Nuevo León	1,822	38.00
Campeche	62,942	34.00	Oaxaca	18,485	36.00
Coahuila	1,425	38.00	Puebla	8,962	38.00
Colima	2,527	36.00	Querétaro	823	38.00
Chiapas	33,098	36.00	Quintana Roo	22,754	34.00
Chihuahua	2,461	38.00	San Luis Potosí	5,936	38.00
Distrito Federal	307	40.00	Sinaloa	737	36.00
Durango	2,094	38.00	Sonora	1,680	38.00
Guanajuato	2,160	40.00	Tabasco	2,424	36.00
Guerrero	9,491	36.00	Tamaulipas	3,678	36.00
Hidalgo	6,505	40.00	Tlaxcala	3213	38.00
Jalisco	21,265	40.00	Veracruz	29,052	36.00
México	4,542	38.00	Yucatán	75,895	34.00
Michoacán	8484	36.00	Zacatecas	8,234	38.00
<b>Sub-Total de Producción Nacional</b>	<b>159,459</b>		<b>Sub-Total de Producción Nacional</b>	<b>190,771</b>	
<b>Total De Producción Nacional 2014</b>			<b>350,230</b>		

\* Producción en toneladas por estado. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2015.

\*\* Costo en pesos mexicanos por litro de miel en cada estado. Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios (ASERCA), 2015.

Dentro del estado de Veracruz, se ha dividido en distritos, en el **Cuadro 3** se presenta el distrito de Fortín de las Flores con una producción total de 570 toneladas, en el cual se encuentran los municipios de Fortín de las Flores y Amatlán de los Reyes.

**Cuadro 3** Producción de miel para el distrito de Fortín de las Flores, Veracruz en el año 2013

Producción, Precio y Valor de miel 2013			
Estado Veracruz	MIEL		
Distrito			
Municipio	Producción (t)	Precio (pesos por kg)	Valor de la producción (miles de pesos)
<b>Fortín (Distrito)</b>	<b>570</b>	<b>62.83</b>	<b>35,802</b>
Amatlán de los Reyes	29.751	37.85	1,126.10
Atoyac	13.72	77.85	1,068.10
Tlaltetela	18.731	71.05	1,330.90
Carrillo Puerto	13.93	77.47	1,079.10
Coetzala	4.55	37.85	172.2
Córdoba	38.5	37.85	1,457.20
Coscomatepec	136.852	71.05	9,723.30
Cuichapa	35	57.89	2,026.20
Cuitláhuac	0.665	77.29	51.4

Fuente: Elaborado por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2015.

**Cuadro 3** (Continuación)

<b>Municipio</b>	<b>Producción (t)</b>	<b>Precio (pesos por kg)</b>	<b>Valor de la producción (miles de pesos)</b>
Fortín	8.822	37.87	334.1
Huatusco	63	71.05	4,476.20
Ixhualtlan del Café	11.2	71.05	795.8
Ixtaczoquitlan	8.75	37.86	331.3
Omealca	45.5	57.89	2,634.00
Paso del Macho	9.24	77.66	717.6
Reyes	1.575	86.5	136.2
Tehuipango	0.14	86.43	12.1
Tepatlaxco	3.5	76.9	269.2
Tequila	3.36	86.5	290.7
Tezonapa	84	57.89	4,862.80
Tomatlan	1.33	71.04	94.5
Totutla	10.505	71.05	746.4
Yanga	2.52	77.46	195.2
Zentla	16.976	71.05	1,206.10
Zongolica	7.7	86.5	666.1

Fuente: Elaborado por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2015.

Nota: El precio está dado en pesos mexicanos.

### **3 Métodos de análisis de la miel**

El realizar análisis físicos y químicos en la miel de abeja, es de suma importancia ya que esto permite saber cuál es la calidad de la misma, según lo establece la Comisión Internacional de la Miel (IHC, por sus siglas en inglés).

En la Región de las Altas Montañas del estado de Veracruz existen tres especies de abejas sin aguijón con alto potencial para ser explotadas comercialmente: *Scaptotrigona mexicana*, *Scaptotrigona pectoralis* y *Nannotrigona perilampoides* (Pérez Sato *et al.*, 2013). Sin embargo, no se conocen a detalle las características nutrimentales de las mismas. Es por ello que el objetivo del presente trabajo fue la caracterización física y química de la miel de la abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana* de la zona centro del estado de Veracruz, México.

## Literatura citada

- Alonso-Torre, S. R., Cavia, M. M., Fernández-Muñoz, M. A., Moreno, G., Huidobro, J. F. & Sancho, M. T. (2006). Evolution of acid phosphatase activity of honey from different climates. *Food Chemistry*, 97, 750-755.
- ASERCA. Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios. (2015). Costo por litro de miel en cada estado. <http://www.aserca.gob.mx>. (Consultado en mayo 2015).
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R. & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health. *American Journal of the College of Nutrition*, 27, 677-689.
- Cheng, C. Tsai, K. & Chang, J. (2006). On-line cut-off technique and organic modifier addition aided signal enhancement for trace analysis of carbohydrates in cellulase hydrolysate by ion exclusion chromatography – electrospray ionization mass spectrometry. *Journal Chromatography*, 1119, 188-196.
- Enríquez, E., Yurrita, C. L., Aldana, C., Ochenta, J., Jáuregui, R., & Chau, P. (2005). Conocimiento tradicional acerca de la biología y manejo de abejas nativas sin aguijón en Chiquimula. *Revista Agricultura*, 8, 27-30.
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2005). La miel un alimento popular. <http://www.fao.org/docrep/008/y5110s/y5110s05.htm>. (Consultado en mayo 2015).
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2015). Producción mundial de miel en diferentes regiones del mundo. <http://faostat.fao.org> (consultado en mayo 2015).

- González-Paramás, A. M., Báñez, J. A. G., García-Villanova, R. J., Pala, T. R., Albajar, R. A. & Sánchez, J. S. (2000). Geographical discrimination of honeys by using mineral composition and common chemical quality parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 157-165.
- Kotwal, S.M. & Shankar, V. (2009). Immobilized invertase. Division of Biochemical Sciences, National Chemical Laboratory, Pune-411008, India. *Biotechnology Advances*, 27, 311-322.
- Pérez Sato, J. A., García García, C. G., Salazar Ortiz, J. & García Alvarado, J. C. (2013). Tipos de cavidades para la crianza de abejas sin aguijón en la Región de las Altas Montañas del Estado de Veracruz. *Agroentorno*, 35-36.
- Przybylowski, P. & Wilczynska, A. (2001). Honey as an environmental marker. *Food Chemistry*, 74, 289-291.
- Quezada Euán, J. J. G. (2005). Biología y uso de las abejas sin aguijón de la península de Yucatán México, Hymenoptera: Meliponini. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. 112 p.
- Radovic, B. S., White, R., Parker, I., Dennis, M. J., Sharman, M., Geiss, H. & Anklam, E. (2001). Contribution of high temperature gas chromatographic analysis of oligosaccharides and ion chromatographic analysis of various cations and anions to authenticity testing of honey. *Journal Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 97, 380-384.
- Saíenz-Laín, C. & Gómez-Ferreras, C. (2000). Mielles Españolas. Características e identificación mediante el análisis de polen. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España 105 p.

- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2015). Estadísticas de Producción de Miel en México, [http://infosiap.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=369](http://infosiap.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=369) (Consultado en mayo 2015).
- Ulloa J.A., Mondragón P.M., Rodríguez R., Reséndiz J.A. & Ulloa R. 2010. La miel de abeja y su importancia. *Fuente*, 2, 11-18.
- Vit, P., Medina, M., y Enríquez, E. 2004. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. *Bee World*, 85, 2-5.
- Viuda-Martos, M, Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J, & Pérez-Alvarez, J.A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal Food Science* 73, 117-124.
- Weston, R. J. (2000). The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: A review. *Food Chemistry*, 71, 235-239.



## **CAPÍTULO 1. Caracterización física y química de miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*) proveniente de Veracruz, México**

López-Garay Luz Anel<sup>1</sup>, Contreras-Oliva Adriana<sup>1\*</sup>, Trejo-Téllez Libia I.<sup>2</sup>, Gómez-Merino Fernando C.<sup>1</sup>, Zaldívar-Cruz Juan M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Carretera Córdoba-Veracruz, km 348. Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C.P. 94946. (lopez.luz@colpos.mx), (adricon@colpos.mx), (fernandg@colpos.mx). <sup>2</sup> Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco, km 36.5. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C.P. 56230. (tlibia@colpos.mx). <sup>3</sup> Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, Periférico Carlos A. Molina s/n, km 3.5, Cárdenas-Huimanguillo. Cárdenas, Tabasco, México. C.P. 86500

### **RESUMEN**

En este estudio se caracterizó la miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*. Los factores de estudio fueron la fecha de muestreo (años 2013 y 2014) y el lugar de muestreo (Fortín de las Flores, Cañada Blanca y Manuel León) en Veracruz, México. Los datos que resultaron de la caracterización física y química fueron sometidos a análisis de varianza y pruebas de comparación de medias (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). La interacción de los factores afectó la actividad de agua, pero no el contenido de hidroximetilfurfural (HMF). En la miel de Fortín de las Flores se observaron mayores valores para color, conductividad eléctrica, pH, acidez láctica y acidez total. El año en que se registraron valores más altos de los parámetros medidos fue 2013. Los datos obtenidos indican mieles jóvenes y de buena calidad, y que Fortín de las Flores es donde se observaron valores más altos de las variables medidas.

**Palabras clave:** *Meliponini*, Conductividad Eléctrica, Hidroximetilfurfural, Actividad de Agua, Fortín de las Flores.

## ABSTRAC

In this study, honey from the bee species *Scaptotrigona mexicana* was characterized. The factors studied included the sampling date (2013 and 2014) and sampling site (Fortín de las Flores, Cañada Blanca, and Manuel León) in Veracruz, Mexico. Data resulting from physical and chemical characterizations were subjected to analysis of variance and mean comparison tests (Tukey's test,  $P \leq 0.05$ ). The interaction of factors affected water activity but not hydroxymethylfurfural (HMF) content. In honey from Fortín de las Flores, greater values for color, electrical conductivity, pH, lactone acidity, and total acidity were observed. The year with the highest recorded values of the measured parameters was 2013. The data obtained indicate good quality of young honey and that the highest values of the measured variables were observed in Fortín de las Flores.

**Keywords:** Meliponini, Electrical Conductivity, Hydroxymethylfurfural, Water Activity, Fortín de las Flores.

## 1.1 Introducción

La demanda del uso de la miel ha incrementado considerablemente debido a la necesidad de productos alimenticios naturales (Álvarez-Suarez *et al.*, 2010), lo que ha aumentado la producción total de ésta en todo el mundo (Ma, 2009). La miel es el único edulcorante utilizado en los alimentos para los seres humanos que no sufre procesamiento.

Los dos principales usos de la miel son el consumo directo (miel de mesa) y el consumo industrial (miel industrial). En este último caso, la miel se utiliza en la fabricación de alimentos o como ingrediente base. En la Unión Europea, aproximadamente el 10 % de la miel se utiliza en la fabricación de alimentos, en tanto que en los Estados Unidos, se utiliza entre el 60 % y el 80 % de la miel en la fabricación de alimentos (miel industrial).

La Comisión Internacional de la Miel ha propuesto criterios para evaluar la calidad de las mieles de *Apis mellifera*, tales como humedad, contenido de azúcares, acidez, hidroximetilfurfural y actividad diastasa, enzima encargada de la degradación del almidón y vinculada con la actividad antibacteriana de la miel (Bogdanov *et al.*, 2000), propiedades que influyen en su calidad y atributos medicinales (Joshi *et al.*, 2000). Adicionalmente, también se han hecho propuestas de estándares de calidad de mieles de abejas sin aguijón, y se publicó una revisión donde se indica la importancia de continuar estudios de la composición física y química de este producto (Souza *et al.*, 2006).

La miel de las abejas sin aguijón además de sus importantes características alimenticias, es ampliamente utilizada en las prácticas de la medicina tradicional en Costa Rica, México, Colombia, Argentina y Guatemala. En estos países se ha empleado en el

tratamiento de enfermedades oculares como la conjuntivitis, la carnosidad de los ojos (pterigión) y la catarata; en las de carácter respiratorio (asma bronquial), digestivo (úlceras en la boca) y ginecológico (para aliviar dolores posparto, y prevenir hemorragias vaginales y várices); así como para tratar erupciones en la piel y problemas urinarios. Ello la convierte en un producto muy apreciado localmente, y de gran demanda en tiendas y farmacias naturistas (Cepeda *et al.*, 2008; Meriggi *et al.*, 2008; González-Acereto, 2008).

Los parámetros físicos y químicos de mieles naturales, tales como la concentración de HMF, color, acidez y conductividad eléctrica están estrictamente definidas y constituyen los indicadores de calidad que caracterizan a las variedades de miel individuales. La medición de estos parámetros es relativamente simple y la información que proporciona es de gran valor (Naab *et al.*, 2008; Kahraman *et al.*, 2010; Feas *et al.*, 2010). Las propiedades fisicoquímicas de la miel de diferentes fuentes se han llevado a cabo por muchos investigadores (Kahraman *et al.*, 2010; Saxena *et al.*, 2010; Gomes *et al.*, 2010).

El parámetro para medir el envejecimiento de la miel es la concentración de HMF, producto intermedio más importante de dos reacciones: la degradación de la hexosa y la descomposición de 3-deoxyosone en la reacción de Maillard (Belitz *et al.*, 2004).

El color depende de varios factores, fundamentalmente está relacionado con el origen botánico y la composición del néctar, con el proceso de obtención y con la temperatura y el tiempo de almacenamiento (Salas *et al.*, 1993). Desde el punto de vista comercial, el color de la miel tiene extrema importancia, ya que determina su precio. A nivel internacional las mieles son catalogadas según su color, que tiene además un valor

diferente en cada mercado. Así, los estadounidenses prefieren las mieles claras, de tonos blanco agua, extra blanco y blanco (entre 0 y 34 mm Pfund), que presentan además un sabor menos intenso. Por su parte, en Europa se privilegian las mieles más oscuras, con sabores más potentes, en tonos ámbar extra claro, ámbar claro, ámbar y ámbar oscuro (entre 34 y 114 mm Pfund). Por esto, la correcta medición del color permite a los exportadores determinar el mercado de comercialización más ventajoso para su producto (Delmoro *et al.*, 2010).

La escala de Pfund se divide en rangos de color (Cuadro 2.1), que permiten clasificar las mieles mediante las siguientes denominaciones:

**Cuadro 1.1** Escala de color para miel de abeja.

<b>Escala internacional</b>	<b>mm Pfund</b>
Blanco agua	0-8 mm
Extra blanco	8-17 mm
Blanco	17- 34 mm
Ámbar Extra claro	34-48 mm
Ámbar claro	48-83 mm
Ámbar	83-114 mm
Ámbar oscuro	Más de 114 mm

Fuente: USDA Standard Grades of Extracted Honey (1985).

La actividad del agua ( $A_w$ ) es un factor importante en la prevención o reducción del crecimiento microbiano y en varios casos la  $A_w$  es el parámetro principal responsable de la estabilidad de alimentos, la modulación de la respuesta microbiana y determinar el tipo de microorganismos encontrados en los alimentos (Cherife, *et al.*, 2006).

El pH de la miel es bajo (con promedio de 3.9, con un intervalo típico de 3.4 a 6.1), por lo que inhibe la presencia y crecimiento de microorganismos, permite la compatibilidad de la miel con muchos productos alimenticios en términos de pH y acidez (National Honey Board, 2006).

La miel puede considerarse un conductor eléctrico secundario, ya que contiene sales minerales, ácidos orgánicos y aminoácidos, que le confieren esta propiedad. La conductividad eléctrica está relacionada con el contenido de minerales y también con el color, ya que algunas sales minerales pueden contribuir con este parámetro (Colosimo y Galetti, 2012).

Las abejas sin aguijón representan “salud ambiental” para los ecosistemas donde habitan y equilibrio en la medida que participan activamente en los procesos de polinización de la mayoría de las plantas con flores. Además, estas abejas son el soporte de la cadena alimentaria que le da sentido al complejo y frágil equilibrio de la vida en selvas y bosques tropicales y subtropicales (González-Acereto, 2012). La meliponicultura es una actividad que aún se encuentra en una etapa que exige un mayor esfuerzo de investigación, así como el incremento en la difusión y socialización de los conocimientos existentes entre comunidades rurales y urbanas. Además de su biología, distribución y clasificación, se requiere conocer más acerca de las propiedades, usos, producción, transformación y comercialización de los productos de las abejas nativas y, especialmente, de su relación con las plantas nativas y cultivadas dentro de los agroecosistemas, vista tanto desde la perspectiva de la polinización, como de las fuentes de recursos requeridas por las poblaciones de abejas silvestres y domésticas (Rosso y Nates-Parra, 2005). En el

contexto anterior, esta investigación tuvo como objetivo caracterizar física y químicamente la miel de estas abejas en las localidades de Cañada Blanca y Manuel León del municipio de Amatlán de los Reyes y el municipio de Fortín de las Flores, Veracruz.

## **1.2 Materiales y Métodos**

### **1.2.1 Elaboración de Mapas**

Para la elaboración de los mapas se trabajó en el laboratorio de Geomática, del Colegio de Postgraduados, campus Montecillo; utilizando el programa ArcGIS versión 10.2, utilizando una imagen LANDSAT, con una resolución 30 m, correspondiente a la fecha del 29 de marzo de 2014.

### **1.2.2 Material Biológico**

Se cosecharon muestras de miel de abeja de la especie *Scaptotrigona mexicana* en tres diferentes sitios del estado de Veracruz, México, durante los años 2013 y 2014. Los lugares de muestreo fueron Cañada Blanca (CB, 18° 57' 10.5" LN, 96° 51' 40.4" LO, 787 m de altitud), Manuel León (ML, 18° 57' 10.4" LN, 96° 55' 40.4" LO, 650 m de altitud) y Fortín de las Flores (FF, 18° 54' 27.8" LN, 96° 57' 38.4" LO, 884 m de altitud). Se consideraron como factores de estudio el lugar de colecta de la miel (L) y el año de muestreo (M) en un experimento factorial con arreglo completamente al azar. La extracción de la miel se realizó manualmente y las muestras se almacenaron en frascos de vidrio color ámbar a 4 °C para su análisis posterior.

### **1.2.3 Análisis físicos y químicos de las muestras de miel**

#### **1.2.3.1 Actividad acuosa (aw)**

Ésta se determinó mediante el equipo portátil Pawkit (modelo Nelson, marca Aqualab; Pullman, WA, Estados Unidos), con una precisión de  $\pm 0.02$ . Para la determinación, en la cápsula se agregó una muestra de miel, colocando el sensor por encima y en 5 min se tomaba la lectura.

#### **1.2.3.2 Color**

Se realizó con la ayuda de un espectrofotómetro (modelo HI96785, marca HANNA; Woonsocket, RI, Estados Unidos), con lecturas directas en mm Pfund en rango 0 - 150 mm, con una precisión  $\pm 2$  mm Pfund a 80 mm Pfund a 25 °C. Las clases de color se expresan en milímetros (mm) del rango Pfund, comparados con un rango analítico estándar de referencia, graduado con glicerina. Aquí se procedió a colocar miel en la celda y una vez calibrado el equipo se insertaba la celda para efectuar la lectura.

#### **1.2.3.3 Conductividad Eléctrica**

Se utilizó un conductímetro (modelo DisT 3 HI98303, marca HANNA; Woonsocket, RI, Estados Unidos), con un rango de medición 1.999 dS m<sup>-1</sup>, resolución 0.001 dS m<sup>-1</sup> y exactitud  $\pm 2$  %.

#### **1.2.3.4 Hidroximetilfurfural**

Este compuesto se determinó mediante un reflectómetro (marca Merck, modelo RQflex 10; Darmstadt, Alemania), con tiras de ensayo Reflectoquant® (Merck Millipore;



Darmstadt, Alemania), para lo cual se diluyeron 5 mL de miel en 20 mL de agua destilada, y se agitó para introducir la tira que sería leída por el equipo.

#### **1.2.3.5 Grados Brix**

Se utilizó el refractómetro digital (modelo HI96813, marca HANNA; Woonsocket, RI, Estados Unidos), en cuyo lente se colocó una gota de miel que es atravesada por un haz de luz, el cual indica el contenido de los sólidos solubles.

#### **1.2.3.6 Acidez Libre, Lactona, Acidez Total y pH**

El valor de pH fue medido con la ayuda de un potenciómetro (modelo CyberScan pH 2100 series, marca Oakton; Vernon Hills, IL, Estados Unidos) a una temperatura de entre 25 y 28 °C. El método de análisis está basado en la neutralización de los ácidos presentes en la miel por titulación de acuerdo al método 962.19 del manual *de* la AOAC (2005). Para ello se disolvieron 10 g de miel en 75 mL de agua destilada, la cual fue agitada y titulada con NaOH 0.05 N a pH 8.5 (acidez libre). Luego se detuvo la adición, e inmediatamente después se agregan 10 mL de NaOH 0.05 N para retrotitulación con HCl 0.05 N a pH 8.3 (acidez láctica). La acidez total resulta de sumar la acidez libre y láctica. Los resultados son expresados en meq kg<sup>-1</sup>.

#### **1.2.3.7 Análisis Estadístico**

Los resultados se analizaron estadísticamente considerando un experimento factorial, donde los factores de estudio fueron el sitio de muestreo (SM) y el año de muestreo (AM), evaluándose también la interacción de estos sobre los parámetros analizados. Los sitios de muestreo fueron Fortín de las Flores (FF), Cañada Blanca (CB) y Manuel León (ML),

en tanto que los años de muestreo fueron los años 2013 y 2014. Se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias por Tukey (0.05).

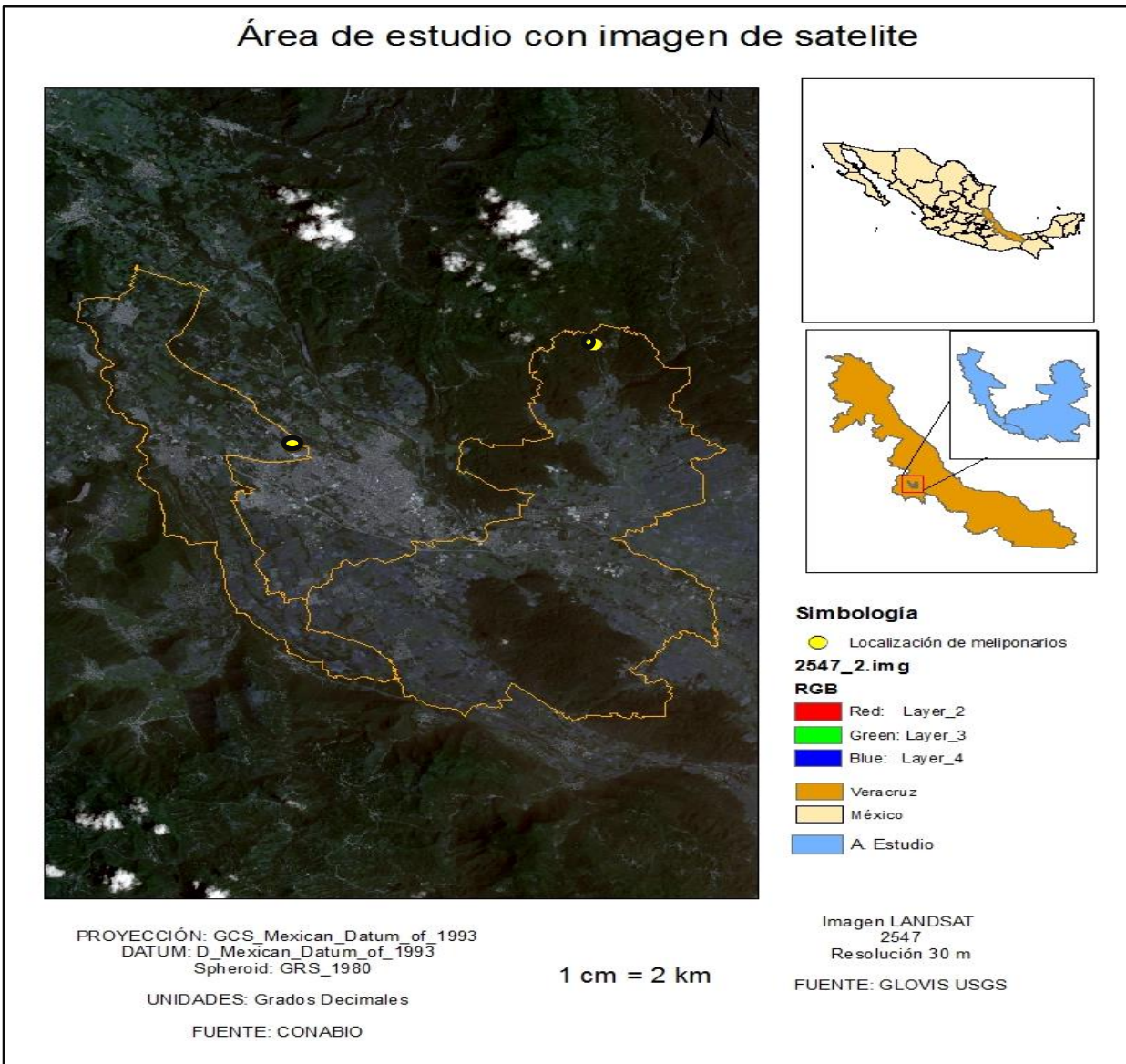
### **1.3 Resultados y Discusión**

La miel ha sido definida como un fluido dulce, denso, transparente y viscoso, resultante de la acción enzimática de las abejas sobre el néctar de las flores y exudados de las partes vivas de las plantas (Dardón y Enríquez, 2008). Las características de la miel varían de un lugar a otro debido a factores como la flora, el clima, suelo, etc. Además, los estudios de composición de mieles de abejas sin aguijón son extensos debido a las numerosas especies de abejas que existen y que cohabitan los ecosistemas en común.

#### **1.3.1. Características de los sitios de muestreo y mapas de distribución**

La **Figura 1.1** muestra la zona de estudio con base en imágenes de satélite, misma en la que se señalan los puntos de donde se obtuvo cada muestra de miel. La localidad de Cañada Blanca (CB, 18° 57' 10.5" LN, 96° 51' 40.4" LO, 787 m de altitud), Manuel León (ML, 18° 57' 10.4" LN, 96° 55' 40.4" LO, 650 m de altitud) y Fortín de las Flores (FF, 18° 54' 27.8" LN, 96° 57' 38.4" LO, 884 m de altitud).

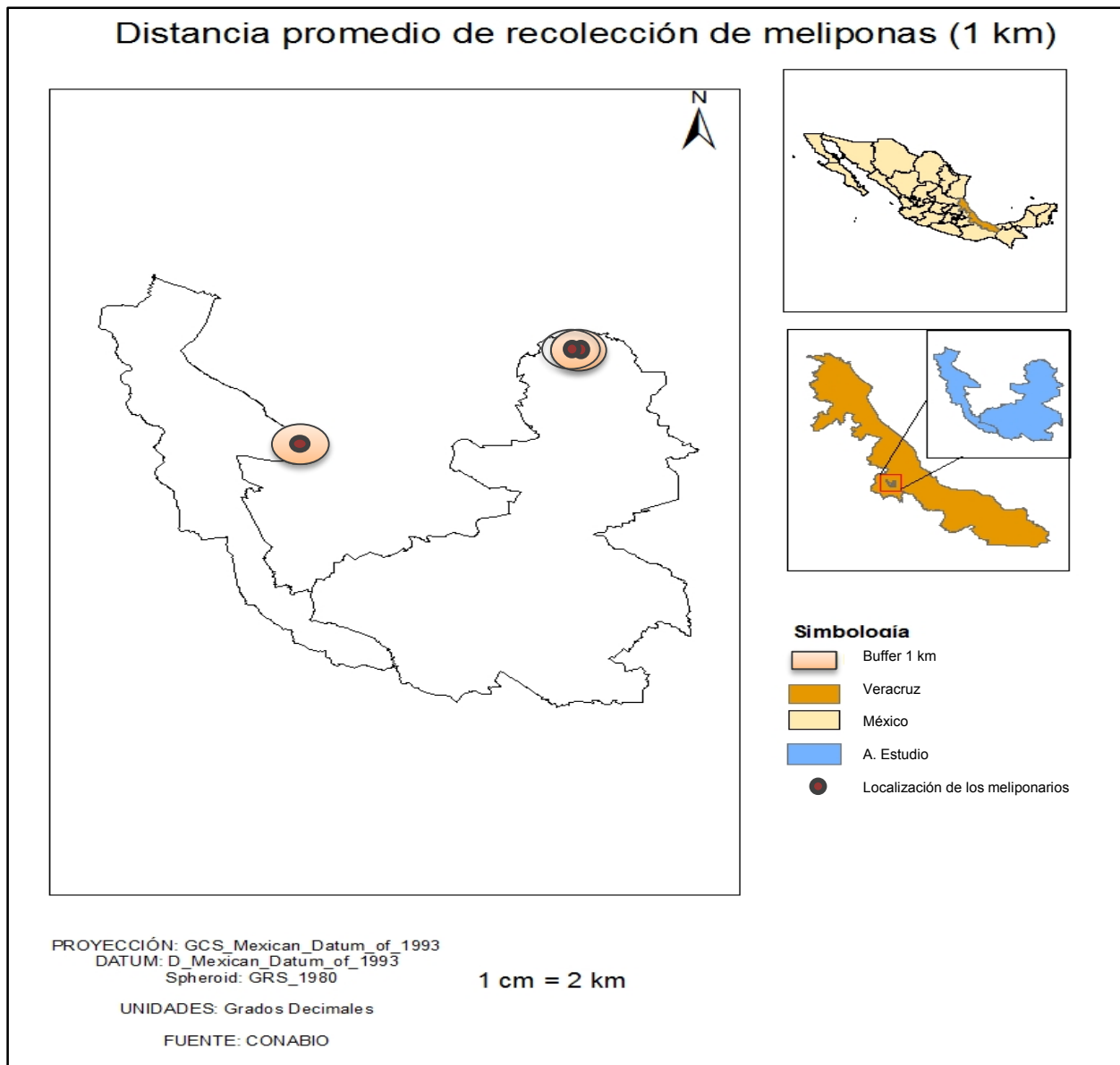
## Área de estudio con imagen de satélite



**Figura 1.1** Imagen de satélite LANDSAT de la zona de estudio ubicada en los municipios de Amatlán de los Reyes y Fortín de las Flores, Veracruz, México.

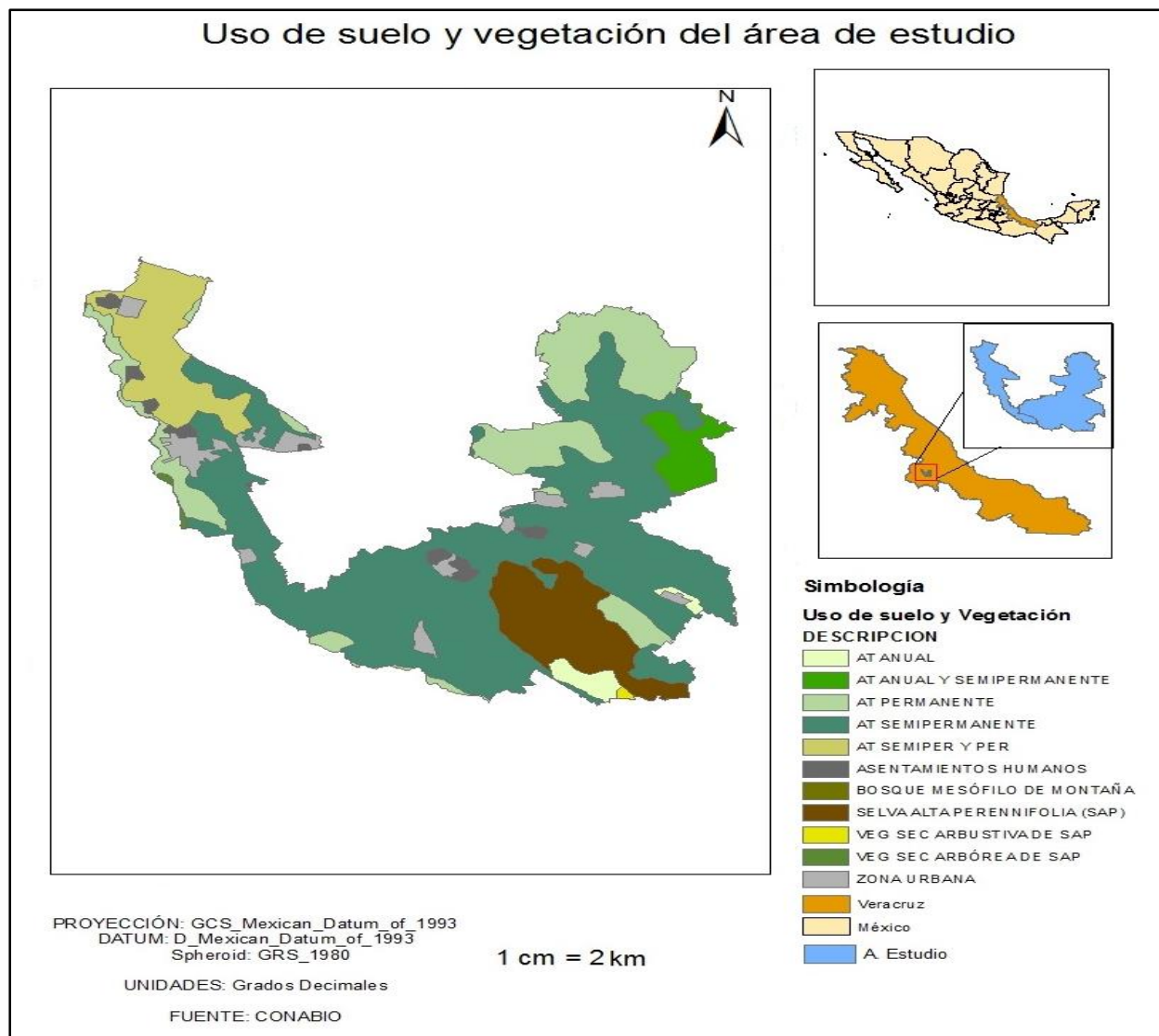
Fuente: GLOVIS USGS, 2014

La **Figura 1.2** muestra la distancia promedio que recorren las abejas sin aguijón, que va desde 500 hasta 1000 m, este perímetro (buffer) conocido, durante el recorrido de campo fue de mucha utilidad ya que la exploración realizada era en la zona exacta, para ver que floración es a la que más recurren.



**Figura 1.2** Distancia promedio de recorrido de las abejas sin aguijón de la zona de estudio ubicada en los municipios de Amatlán de los Reyes y Fortín de las Flores, Veracruz, México.

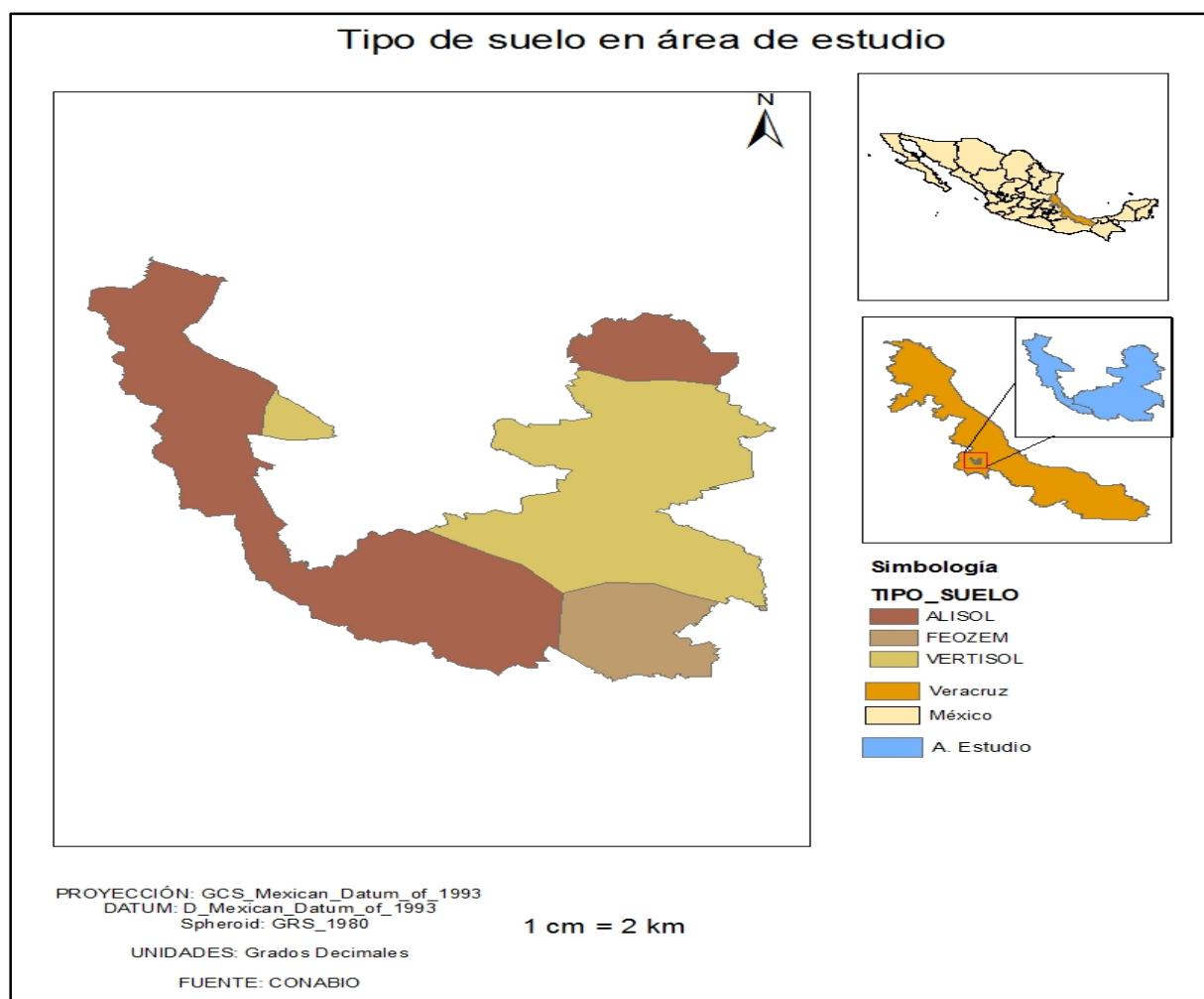
La **Figura 1.3** muestra el uso de suelo y vegetación del área de estudio que en relación a la figura anterior y a la ubicación de los puntos de estudio. La vegetación predominante es la agricultura de temporal permanente y semipermanente, de los cuales en base a un recorrido en campo se observó que hay gran presencia de café (*Coffea spp-arabica*), limón (*Citrus limonum*), naranja (*Citrus x sinensis*), xochicuahuatl (*Cordia alliodora*), vainilla (*Vanilla planifolia*), sauco (*Sambucus nigra* L.), mirto (*Salvia microphylla*), clerolendo (*Clerodendrum speciosissimum*), barba de chivo (*Caesalpinia gilliesii*), ruda (*Ruta graveolens*), orégano (*Origanum vulgare*), entre otras. Los reportes a través de comunicaciones personales indican que muchas de estas especies son usadas para preparar sus alimentos o bien para el tratamiento de alguna enfermedad. Por lo tanto, es posible postular que algunas de las propiedades medicinales que presentan estas especies vegetales, puedan ser transferidas a la miel a través del polen y néctar que cosechan las abejas de sus flores.



**Figura 1.3** Uso de suelo y vegetación de la zona de estudio ubicada en los municipios de Amatlán de los Reyes y Fortín de las Flores, Veracruz, México.

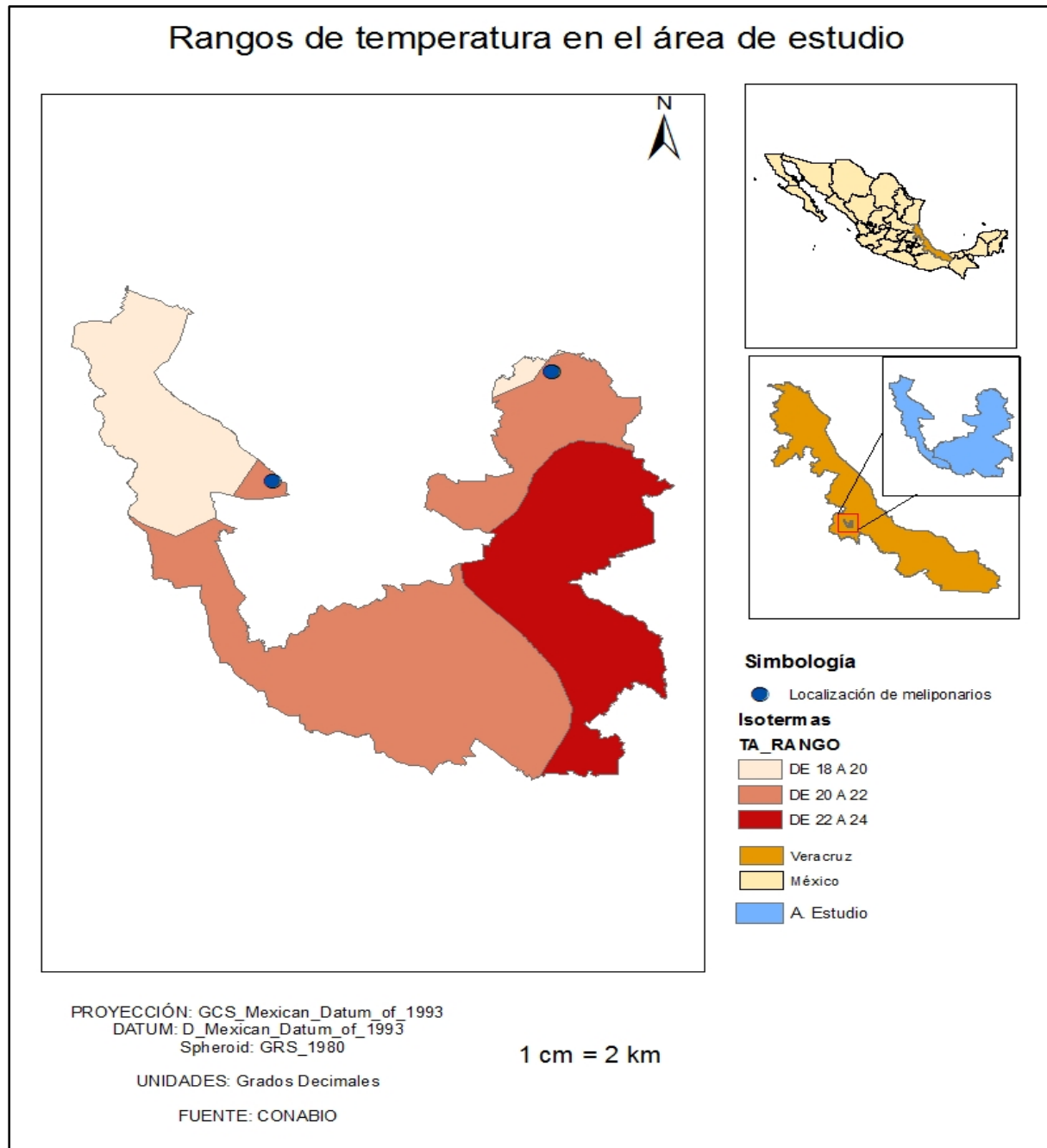
En la **Figura 1.4** se presenta el tipo de suelo que predomina en cada punto estudiado. Se puede observar que en el municipio de Fortín de las Flores (FF) predomina el suelo vertisol, este tipo de suelo presenta alta capacidad de intercambio catiónico (CIC) y alto porcentaje de saturación, los valores de pH oscilan entre 6.0 a 8.0, el porcentaje de saturación de bases es mayor de 50 % y a menudo cercano al 100 % con  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$

ocupando más del 90 % de los sitios de intercambio (WRB, 2007). Para las localidades de Cañada Blanca (CB) y Manuel León (ML) predomina el suelo alisol, estos son suelos ácidos con alta actividad de arcillas acumuladas en su subsuelo. Estos se dan en regiones templadas sub tropicales húmedas y cálidas, sobre materiales que contiene más de un 50 % de saturación por aluminio intercambiable (WRB, 2007). En base a esto también se puede deducir el porqué de la existencia de ciertos minerales en la miel, que a su vez se relacionan con el pH, la conductividad eléctrica, los sólidos solubles y el color.



**Figura 1.4** Tipo de suelo en la zona de estudio ubicada en los municipios de Amatlán de los Reyes y Fortín de las Flores, Veracruz, México.

La **Figura 1.5** muestra las temperaturas medias en las zonas de estudio, las cuales fluctúan de los 20 a los 22 °C, y resultan idóneas para el establecimiento, desarrollo y producción de las abejas en estudio.



**Figura 1.5** Rangos de temperatura de la zona de estudio ubicada en los municipios de Amatlán de los Reyes y Fortín de las Flores, Veracruz, México.



### 1.3.2. Caracterización física y química de la miel

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que los parámetros conductividad eléctrica, color, pH, acidez libre, acidez láctica y total fueron influenciados significativamente por los efectos principales de los factores de estudio y por la interacción de éstos. Por el contrario, la concentración de HMF no fue afectada por los factores de estudio. La  $a_w$  solo fue estadísticamente diferentes por el efecto de la interacción del sitio y año de muestreo (SM x AM). Los grados Brix solo fueron influenciados significativamente por el año de muestreo (AM) (**Cuadro 1.2**).

**Cuadro 1.2** Significancia estadística de los factores de estudio y su interacción en las variables físicas y químicas realizadas en mieles abeja sin agujón de la especie *Scaptotrigona mexicana*.

Factor y niveles de estudio	Actividad acuosa ( $a_w$ )	C. E. (dS cm <sup>-1</sup> )	Color (mm Pfund)	°Bx	HMF (meq kg <sup>-1</sup> )
SM	0.1456 ns	<.0001 *	<.0001 *	0.5274 ns	0.4086 ns
AM	0.5577 ns	0.0010 *	<.0001 *	0.0011 *	0.5438 ns
SM * AM	0.0035 *	0.0004 *	<.0001 *	0.3381 ns	0.0500 ns
	pH	Acidez libre (meq kg <sup>-1</sup> )	Acidez láctica (meq kg <sup>-1</sup> )	Acidez total (meq kg <sup>-1</sup> )	
SM	<.0001 *	0.0091 *	0.0055 *	0.0071 *	
AM	<.0001 *	0.0423 *	0.0011 *	0.0009 *	
SM * AM	<.0001 *	<.0001 *	0.0155 *	0.0136 *	

\* Significativo (Tukey,  $P \leq 0.05$ ); ns no significativo. SM: Sitio de muestreo; AM: año de muestreo; SM x AM: Interacción de los factores de estudio sitio y año de muestreo. C. E. conductividad eléctrica; HMF 5-hidroximetilfurfural.

La caracterización física y química suele realizarse para determinar las cualidades de la miel, en especial con fines de comercialización. Para analizar la composición de la miel se emplean los parámetros establecidos para evaluar la miel de *Apis mellifera* y

*Scaptotrigona mexicana*. De ésta última, Vit *et al.* (2004) han propuesto algunos valores de referencia.

El agua libre es medida como actividad acuosa ( $a_w$ ) y se considera un indicador de la pureza, así como del grado de madurez y la estabilidad de la miel durante su almacenamiento, es decir, de si presenta o no riesgos de descomponerse por fermentación (Umaña, 2006). Los valores medios reportados en mieles oscilan de 0.562 a 0.620 (Olaitan *et al.*, 2007). Los valores de  $a_w$  aquí obtenidos son ligeramente superiores a los indicados. Los efectos principales de lugar y año de muestreo no fueron significativos en la  $a_w$  como ya se indicó previamente. Por interacción de los factores de estudio no hubo diferencias significativas entre los años de muestreo para un mismo sitio, y solo en el muestreo realizado en 2013 existieron diferencias estadísticamente significativas, siendo las mieles de Cañada Blanca y Fortín de las Flores superiores en actividad acuosa a la miel de Manuel León (**Cuadro 1.3**).

Muchas especies de bacterias son completamente inhibidas si la  $a_w$  se encuentra entre 0.94 y 0.99; existen algunas especies también presentan su tasa de crecimiento máxima con valores de  $a_w$  de 0.99, por lo que la inhibición por el efecto osmótico de soluciones diluidas de miel dependerá de manera evidente de la especie de bacteria (Olaitan *et al.*, 2007).

**Cuadro 1.3** Efectos principales de factores de estudio y de interacción en la actividad acuosa ( $a_w$ ) y la concentración de 5 - hidroximetilfurfural en mieles de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*.

<b>Factor de estudio</b>	<b>Nivel del factor</b>	<b>Actividad acuosa (<math>a_w</math>)</b>	<b>HMF (<math>\text{mg kg}^{-1}</math>)</b>
SM	Cañada Blanca	0.732 ± 0.0049 a	2.88 ± 0.70 a
	Manuel León	0.723 ± 0.0060 a	3.45 ± 0.35 a
	Fortín de la Flores	0.732 ± 0.0058 a	2.81 ± 0.59 a
AM	2013	0.730 ± 0.0070 a	3.17 ± 0.48 a
	2014	0.728 ± 0.0041 a	2.92 ± 0.63 a

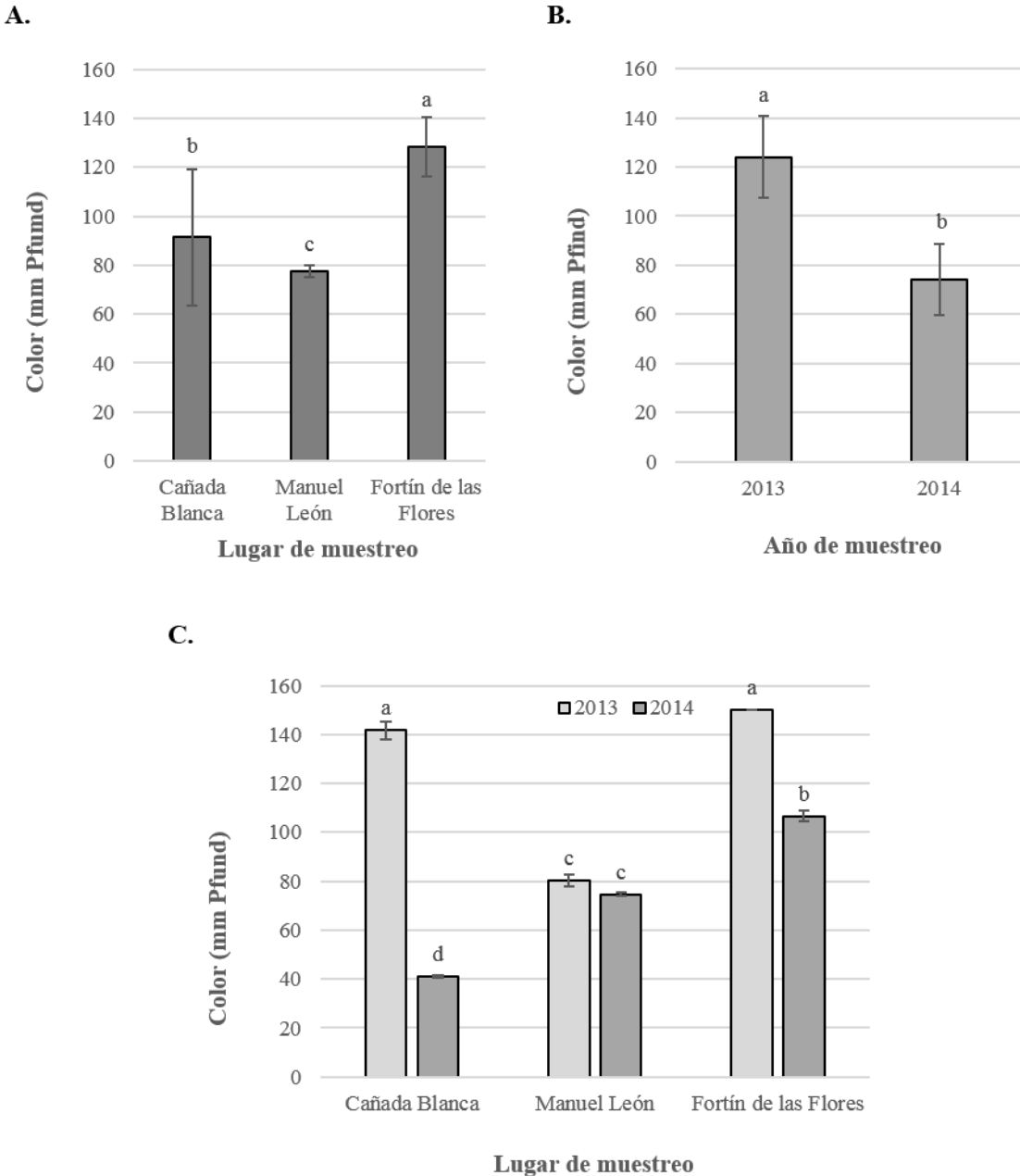
<b>Lugar de muestreo</b>	<b>Año de muestreo</b>	<b>Actividad acuosa (<math>a_w</math>)</b>	<b>HMF (<math>\text{mg kg}^{-1}</math>)</b>
CB	2013	0.740 ± 0.0000 a	2.10 ± 0.90 a
	2014	0.723 ± 0.0029ab	3.67 ± 0.76 a
ML	2013	0.713 ± 0.0029 b	3.57 ± 0.29 a
	2014	0.733 ± 0.0029ab	3.33 ± 0.47 a
FF	2013	0.737 ± 0.0060 a	3.87 ± 0.08 a
	2014	0.727 ± 0.0060ab	1.77 ± 0.20 a

Letras distintas en cada factor de estudio o interacción para cada variable, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). SM: Sitio de muestreo; AM: año de muestreo; CB: Cañada Blanca; ML: Manuel León; FF: Fortín de las Flores.

La evaluación de HMF es usada para determinar la calidad de la miel; generalmente no se encuentra presente en miel fresca. Las concentraciones altas de HMF en la miel indican sobrecalentamiento, deficientes condiciones de almacenamiento y vejez en la miel (Zappalà *et al.*, 2005). La Comisión de Codex Alimentarius y la Unión Europea establecieron que la concentración permitida de HMF en miel no debe superar los 80 y 40  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectivamente. La Unión Europea establece algunas excepciones; en mieles de países o regiones de climas tropicales el valor permitido es hasta de 80  $\text{mg kg}^{-1}$ , como es el caso de las mieles aquí evaluadas (Codex Alimentarius, 2000; EU Directive).

En este estudio los valores registrados de HMF en todos los lugares y años de muestreo son bajos como se muestra en el **Cuadro 1.2**, oscilando de 1.77 a 3.67 mg kg<sup>-1</sup>, éstos son indicativos de mieles jóvenes de alta calidad.

Los resultados de la evaluación del color por efectos principales de los factores de estudio y su interacción se presentan en la **Figura 1.6**. La miel de Fortín de las Flores tiene valores de color significativamente superiores a los del resto de los lugares de muestreo (**Figura 1.6A**); por otro lado, en el año 2013 se tuvieron también medias de color estadísticamente mayores al año 2014 (**Figura 1.6B**). Desde el punto de vista de interacción, en las mieles provenientes de Fortín de las Flores y de Cañada Blanca colectadas en el año 2013 se registraron mayores valores de color al resto (**Figura 1.6C**).



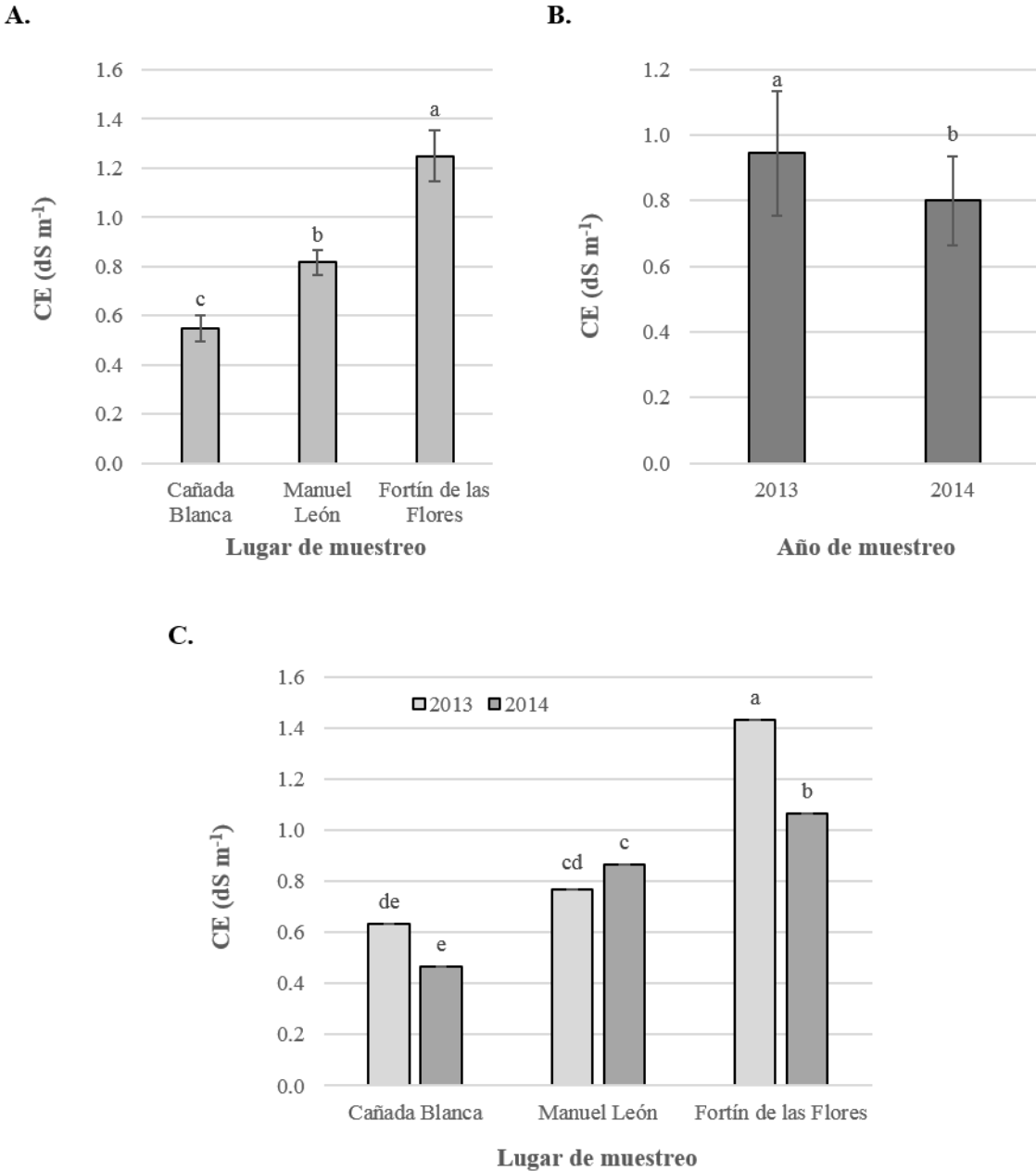
**Figura 1.6** Efecto principal del lugar (A), año de muestreo (B) y su interacción (C) en el color de mieles de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

El color de la miel líquida va desde claro e incoloro hasta ámbar oscuro o negro; éste depende de su origen botánico, edad y condiciones de almacenamiento. Los valores de

color obtenidos en este estudio son de manera general superiores a 60 mm Pfund, que indican mieles oscuras. Salgado y Meidana (2014) al analizar el color de mieles producidas en la provincia de Chaco, Argentina reportan diferencias en éste en función de la vegetación del sitio de recolección, observaron que mieles oscuras fueron obtenidas de zonas donde los bosques nativos aún prevalecen y especies forestales son la fuente principal de néctar; mientras que, mieles claras se colectaron en zonas agrícolas de la provincia, donde existe poca diversidad de cultivos. De la misma manera, en este estudio la miel que presentó mayor valor de color fue la que proviene de Fortín de las Flores, zona con mayor variabilidad de flora y menor perturbación, dado por la distancia que recorren las abejas en la zona de ubicación de los meliponarios. Si bien, el sitio Cañada Blanca también presenta baja perturbación, en éste el paisaje está dominado por huertas de café y cítricos.

Al igual que el color, la conductividad eléctrica es un buen criterio para conocer el origen botánico de la miel y por tanto es una variable usada con frecuencia en el control de la calidad y pureza de la miel. Ésta contiene ácidos orgánicos y sales minerales, compuestos que químicamente son “ionizables” cuando están en solución y tienen la propiedad de conducir corriente eléctrica (Yadata, 2014). El valor de la conductividad eléctrica de la miel colectada en Fortín de las Flores fue significativamente más alto que el resto, con un promedio de  $1.25 \text{ dS m}^{-1}$ ; los valores de CE de las mieles de Cañada Blanca y Manuel León representaron solo el 44.00 y 65.33 % del valor registrado en Fortín de las Flores (**Figura 1.7A**). Si bien la diferencia entre la CE por año de muestreo no fue tan grande, son estadísticamente diferentes, registrándose la media más alta en el año 2013 (**Figura 1.7B**). Al observar los resultados de la interacción de los factores de

estudio, es evidente el mayor impacto del factor lugar de muestreo en la conductividad eléctrica, donde en Fortín de las Flores se registran los valores más altos de esta variable (**Figura 1.7C**). Así también destaca que en el caso de la miel colectada en Fortín de las Flores existe una relación positiva entre el color y la conductividad eléctrica, lo cual es coincidente con lo reportado por Salgado y Meidana (2014). Es importante también notar que los valores de CE obtenidos especialmente en la miel de Fortín de las Flores, superan con mucho el valor establecido por el Codex Alimentarius para mieles florales que es de  $0.8 \text{ dS m}^{-1}$  (Codex Alimentarius, 2000); estos altos valores de CE podrían indicar presencia de mielato en la miel (miel de mielada); que también se asocia a mieles más oscuras como en este caso (Escuredo *et al.*, 2012).

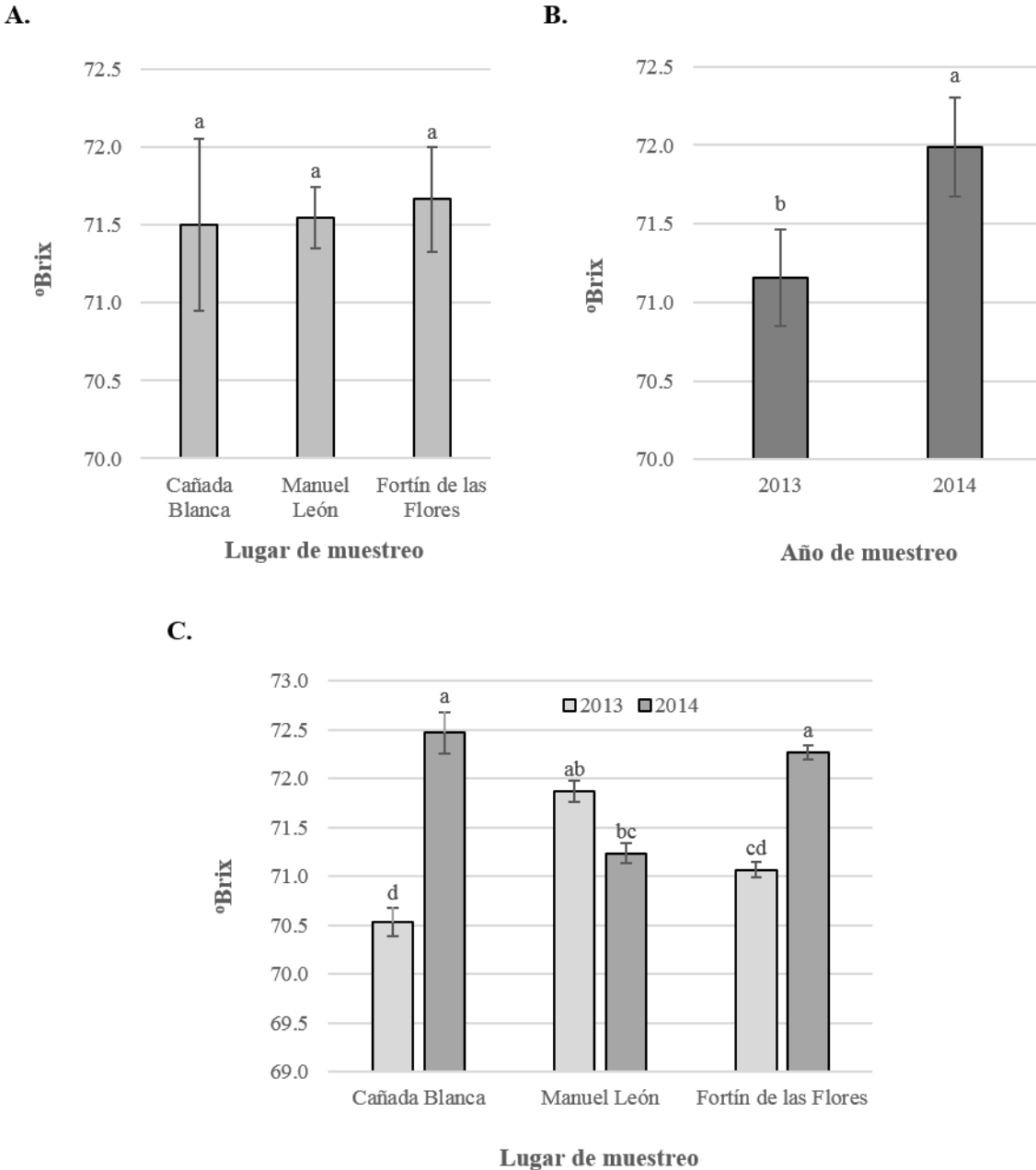


**Figura 1.7** Efecto principal del lugar (A), año de muestreo (B) y su interacción (C) en la conductividad eléctrica de mieles de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

El contenido de los sólidos solubles para la miel es de 75 °Bx de acuerdo con la AOAC-932.12, Avilés y Matos (2009) reportaron un promedio de 76 °Bx en el estudio realizado



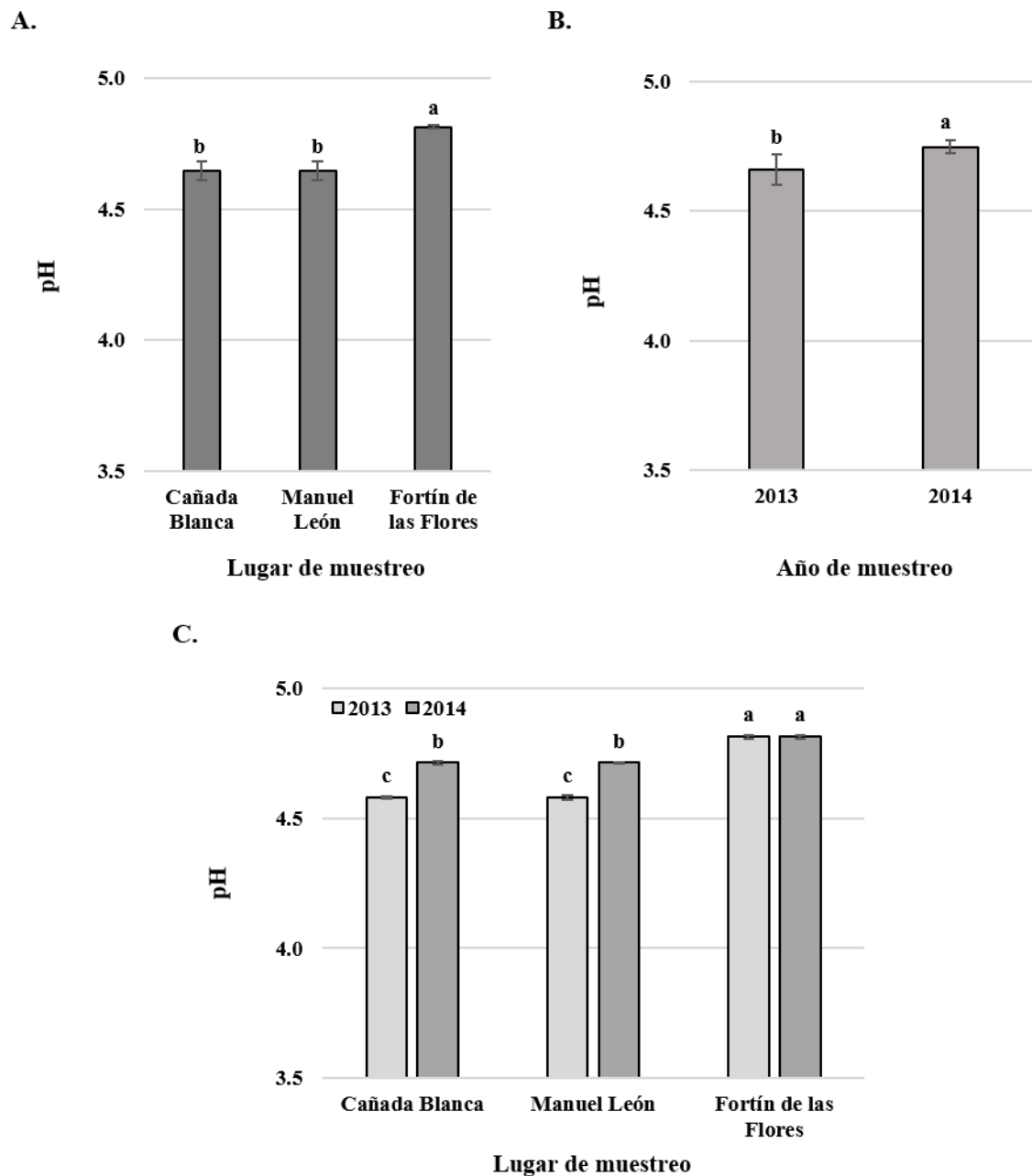
a muestras de miel de *A. mellifera* en Perú. Estos valores son mayores a los registrados en este estudio, donde se observó que estadísticamente no hubo diferencia por lugar de muestreo; empero las muestras pertenecientes al municipio de Fortín de la Flores presentaron la media más alta con un valor de 71.66 °Bx (**Figura 1.8A**). Por otro lado en la **Figura 1.8B** se presenta el efecto principal de año de muestro, siendo 2014 donde se registraron los mayores valores de grados Brix. Respecto a la interacción de los factores estudiados, los valores más altos se tuvieron en las mieles de Cañada Blanca en el año 2014 (72.46 °Bx), en Fortín de las Flores del año 2014 (72.26 °Bx) y en Manuel León del año 2013 (71.87 °Bx). Por el contrario, el valor más bajo se presentó en las muestras provenientes de la localidad de Cañada Blanca de la cosecha 2013 con el valor de 70.53 °Bx (**Figura 1.8C**).



**Figura 1.8** Efecto principal del lugar (A), año de muestreo (B) y su interacción (C) en los °Brix de mieles de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*. Medias ± DE con letras diferentes en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

El bajo pH de la miel provocan la inhibición, la presencia y crecimiento de microorganismos, permitiendo la compatibilidad de la miel con muchos productos

alimenticios en términos de pH y acidez (National Honey Board, 2006). De acuerdo con un estudio realizado en muestras de miel *A. mellifera* en Argentina reportan valores de pH de 4.17. Por otra parte, un estudio realizado en Australia en mieles de la especie *Trigona carbonaria* reportaron valores de pH de 4 (Persano *et al.*, 2008), mientras que en esta investigación se obtuvieron valores más altos. En la **Figura 1.9A** se observa el efecto principal del lugar de muestreo donde la muestra de Fortín de las Flores presentó la media más alta con un valor de 4.81. En lo que respecta al año de muestreo se conformaron dos grupos estadísticos, siendo la cosecha del 2014 la que exhibió el valor más alto de pH (**Figura 1.9B**) y por último para la interacción de ambos factores de estudio, se obtuvieron tres grupos estadísticos, siendo la muestra de Fortín de las Flores de ambos años de cosecha los de mayor pH (4.81) como se observa en la **Figura 1.9C**.



**Figura 1.9** Efecto principal del lugar (A), año de muestreo (B) y su interacción (C) en el pH de mieles de abeja sin agujón de la especie *Scaptotrigona mexicana*. Medias ± DE con letras diferentes en cada subfigura indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

#### **1.4 Conclusión**

La caracterización de la miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*), es de gran importancia ya que con los resultados obtenidos y comparándolos con trabajos de otros autores se puede contribuir a la elaboración de una norma específica para determinar la calidad de esta miel. En base a los resultados obtenidos se puede llegar a la conclusión que la miel de mayor calidad fue la perteneciente al municipio de Fortín de las Flores.

## Literatura citada

- Álvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E. & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health: A review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3, 15-23.
- AOAC International: Official methods of analysis. (2005). 16th ed. 44, p. 40. Gaithersburg, MD.
- Avilés, P. H. A. & Matos, C. A. (2009). Análisis comparativo de la Calidad Fisicoquímica, Microbiológica y Organoléptica de la miel de abeja (*Apis mellifera*) producida en diferentes Regiones del Perú. *Revista de Investigación Universitaria*, 1, 5-11.
- Belitz, H. D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2004). Food Chemistry. (3rd ed.). Berlin-Heidelberg. 261 p.
- Bogdanov, S., Lüllmann, C. & Martin, P. (2000). Honey Quality. Methods of Analysis and International Regulatory Standards: Review of the Work of the International Honey Commission. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 90, 108-125.
- Cepeda, M., Nates-Parra, G. & Téllez, G. (2008). Comercialización de los productos de la meliponicultura en Colombia. Memorias. V Congreso Mesoamericano sobre abejas sin aguijón. Mérida, Yucatán. pp. 36.
- Cherife, J., Zamoá, M. C. & Motto, A. (2006). The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. *Journal of food Engineering*, 72, 287-292.
- Codex Alimentarius, Alinorm. (2000). Draft revised standard for honey at step 8 of the Codex procedure; EU Directive /110/2001 of 02/12/2001 (L 10/47).

- Colosimo, J., & Galetti, V. (2012). Evaluación de la conductividad eléctrica y Otros Parámetros fisicoquímicos en mieles monoflorales de loto y eucalipto. Memorias de las 5ª Jornadas de Eficiencia y Tecnología, pp.1-6.
- Dardón, M. J. & Enríquez, E. (2008). Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (Meliponini) de Guatemala. *Interciencia*, 33, 916-922.
- Delmoro, J., Muñoz, D., Nadal, V., Clementz, A. & Pranzetti, V. (2010). El color en los alimentos: Determinación de color en mieles. *Invenio*, 13, 145-152.
- Escudero, O. Fernandez-Gonzalez, M. & Seijo, M. C. (2012). Differentiation of Blossom Honey and Honeydew Honey from Northwest Spain. *Agriculture*. 2, 25-37.
- Feas, X., Pires, Y., Iglesias, A., & Estevinho, ML. (2010). Caracterización de la miel artesanal producida en el noroeste de Portugal por los datos melisopalínológico y físico-química. *Food and Chemical Toxicology*. 48, 3462-3470.
- Gomes, S., Dias, L.G., Moreira, L.L., Rodrigues, P., & Estevinho, L. (2010). Propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y antimicrobianas de mieles comerciales de Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 544-548.
- González-Acereto, J.A. (2008). Cría y manejo de abejas nativas sin aguijón en México. Editorial UADY. México. P. 39.
- González-Acereto, J. A. (2012). La importancia de la meliponicultura en México, con énfasis en la península de Yucatán. *Bioagrocencias*, 5, 34-41.
- IUSS Grupo de Trabajo WRB. (2007). Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. Primera actualización 2007. Informes sobre Recursos Mundiales de Suelos No. 103. FAO, Roma.

- Joshi, S., Pechhacker, H., William, A., & Von der Ohe, W. (2000). Physico-chemical characteristics of *Apis dorsata*, *A. cerana* and *A. mellifera* honey from Chitwan district, central Nepal. *Apidologie*, 31, 367-375.
- Kahraman, T., Buyukunal, SK., Vural, A., & Altunatmaz, SS. (2010). Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. *Food Chemistry*, 123, 41-44.
- Ma, L. (2009). International comparison of the export competitiveness of Chinese honey. *Asian Agricultural Research*, 1, 17-20.
- Meriggi, J.L., Lucía, M., & Abrahamovich, A.H. (2008). Meliponicultura en Argentina: una posible herramienta para la conservación y el desarrollo sustentable en el “impenetrable” Chaqueño. Memorias. V Congreso Mesoamericano sobre abejas sin aguijón. Mérida, Yucatán. pp. 30.
- Naab, O.A., M.A., Tamame, M.A., & Caccavari, M.A. (2008). Palinológicos y características físico-químicas de tres tipos de miel monoflorales del centro de Argentina. *Revista Española de Investigación Agrícola*, 6, 566-576.
- National Honey Board. (2006.) pH and acids in honey. Disponible en <http://www.honey.com/tools-tips-and-resources/ph-acids-in-honey>. (Consultado el 13 de mayo de 2015).
- Olaitan, P. B., Adeleke, O. E. & Ola, I. O. (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Science*, 7, 159-165.
- Persano, L. O., Fernández-Muiño, M., Heard, T. A., Sancho, M. T., Rodríguez-Malaver, A., Sesta, G., Pérez, R. A., Lorenzo Lusco, L. & Vit, P. (2008). Composition and Antioxidant Activity of *Trigona carbonaria* Honey from Australia. *Journal Medicinal Food*, 11, 789-794.



- Rosso, L. J. M. & Nates-Parra, G. (2005). Meliponicultura: una actividad generadora de ingresos y servicios ambientales. *Agroecología*, 14-16.
- Salas, J.P., Echavarri J.F. & Negueruela, A. (1993). Influencia de la temperatura en la medida del color de la miel. *Optica Pura y Aplicada*, 26, 549-557.
- Salgado, C. R. & Maidana, J. F. (2014). Physicochemical characterization of honey produced in the Chaco province (Argentina). *Facultad de Ciencias Agrarias*, 46, 191-201.
- Saxena, S., Gautam, A. & Sharma. (2010). Propiedades físicas, bioquímicas y antioxidantes de algunas mieles de la India. *Food Chemistry*, 118, 391-397.
- Souza, B., Roubik, D., Barth, O., Heard, T., Enríquez, E., & Carvalho C. (2006). Composition of stingless bee honey: Setting quality standards. *Interciencia*, 31, 867-875.
- Umaña, E. (2006). Análisis de miel de abejas para su control de calidad: pruebas físicas y químicas. Notas apícolas costarricenses. Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. 9 p.
- Vit, P., Medina, M., & Enríquez, E. (2004). Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. *Bee World*, 85, 2-5.
- Yadata, D. (2014). Detection of the Electrical Conductivity and Acidity of Honey from Different Areas of Tepi. *Food Science and Technology*, 2, 59-63.
- Zappala, M. Fallico, B., Arena, E. & Verzera, A. (2005). Methods for the determination of HMF in honey: a comparison. *Food Control*, 16, 273-277.

## **CAPÍTULO 2. Análisis elemental de miel de abeja de la especie *Scaptotrigona mexicana* en la zona centro del estado de Veracruz**

Luz Anel López Garay<sup>1</sup>, Libia I. Trejo-Téllez<sup>2\*</sup>, Adriana Contreras-Oliva<sup>1</sup>, Fernando C. Gómez Merino<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados, campus Córdoba, Carretera Córdoba-Veracruz, km 348. Congr. Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C.P. 94946.

<sup>2</sup> Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, Carretera México-Texcoco, km 36.5. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C.P. 56230.

### **RESUMEN**

En este estudio se determinó la concentración de Al, B, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, N, Na, P, Pb, S y Zn de seis muestras de miel de abeja de la especie *Scaptotrigona mexicana* cosechadas en el año 2013 y 2014 del municipio de Fortín de las Flores (FF, 18° 57' 10.4" LN, 96° 55' 40.4" LO, 884 m de altitud) y las localidades de Cañada Blanca (CB, 18° 57' 10.5" LN, 96° 51' 40.4" LO, 787 m de altitud) y Manuel León (ML, 18° 54' 27.8" LN, 96° 57' 38.4" LO, 650 m de altitud) pertenecientes al municipio de Amatlán de los Reyes del estado de Veracruz, México. Las muestras para el análisis mineral se prepararon por digestión ácida y posteriormente leídos mediante la técnica de Espectrometría de Plasma de Acoplamiento Inductivo de Emisión Atómica (ICP-AES). El mineral que tuvo mayor presencia en todas las muestras fue el K, presentando un valor máximo de 213.44 mg kg<sup>-1</sup>, en el municipio de Fortín de las Flores. Por otra parte, se observó que el Pb es nulo en las muestras provenientes de Cañada Blanca en ambas cosechas; por otro lado la muestra de Fortín de las Flores cosechada en el año 2014 no tuvo presencia de dicho elemento. La determinación de N total se realizó por el método de Kjeldahl, presentándose la concentración mayor de 304.79 mg kg<sup>-1</sup> en Cañada Blanca.

**Palabras clave:** Elementos, Veracruz, Espectroscopia de Plasma de Acoplamiento Inductivo de Emisión Atómica, Nitrógeno

## ABSTRAC

In this study the concentration of Al, B, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, N, Na, P, Pb, S and Zn six honey samples of the species was determined *Scaptotrigona* Mexican harvested in 2013 and 2014 the municipality of Fortin de las Flores (FF, 18° 57 '10.4 "LN, 96 ° 55' 40.4" LO, 884 m) and the towns of Cañada Blanca (CB, 18° 57 '10.5 "LN, 96° 51' 40.4" LO, 787 m) and Manuel Leon (ML, 18° 54 '27.8 "LN, 96° 57' 38.4" LO, 650 m) belonging to the municipality of Amatlán de los Reyes in the state of Veracruz, Mexico. Samples for analysis were prepared by mineral acid digestion and subsequently read by spectrometry technique Inductively Coupled Plasma Atomic Emission (ICP-AES). The ore had greater presence in all samples was the K, with a maximum value of 213.44 mg kg<sup>-1</sup>, in the town of Fortin de las Flores. Moreover, it was observed that Pb is zero in samples from Canada Blanca in both harvests; on the other hand the sample of Fortin de las Flores harvested in 2014 had no presence of the element. The determination of total N was performed by the Kjeldahl method, presenting the largest concentration of 304.79 mg kg<sup>-1</sup> in Cañada Blanca.

**Keywords:** Elements, Veracruz, Spectroscopy Inductively Coupled Plasma Atomic Emission, Nitrogen

## 2.1 Introducción

El uso de la miel ha aumentado en los últimos años debido a sus propiedades nutracéuticas, y se considera que es un ingrediente deseable en una gama de diferentes productos alimenticios (Álvarez-Suarez *et al.*, 2010). La miel es el único edulcorante utilizado en los alimentos para los seres humanos que requiere procesamiento o transformación industrial y hay una tendencia creciente en la producción total de miel en todo el mundo (Ma, 2009). Para determinar la calidad y el tipo de la miel que se produce, se utiliza una amplia gama de parámetros, tales como el color, contenido de azúcar, pH, contenido de humedad y el análisis mineral (Conti, 2000). En particular, el contenido mineral de la miel depende de la absorción nutrimental de la planta desde el suelo y del medio ambiente (González-Miret *et al.*, 2005). Miel oscuras generalmente contienen niveles más altos de minerales. Veintisiete elementos minerales se han identificado en la miel de abejas melíferas producida en nueve países diferentes; empero, hasta el momento, no se ha mostrado que una miel tenga los 27 elementos. En la mayoría de los estudios han encontrado que los grupos particulares de minerales en la miel dependen del origen floral y geográfico (Fernández-Torres *et al.*, 2005; Golob *et al.*, 2005; Luchman *et al.*, 2007; Madejczyk y Baralkiewicz, 2008 y Terrad *et al.*, 2005). El contenido mineral de la miel es una característica nutricional positiva y, si se analiza con más frecuencia, podría ser utilizado para promover las características positivas de la miel más ampliamente. En la caracterización de mieles monoflorales, algunos autores (Serrano *et al.*, 2004 y Soria *et al.*, 2004) han sugerido el uso de parámetros físicos y químicos (es decir, pH, contenido de azúcar, conductividad eléctrica, prolina, actividad enzimática, contenido de agua y cenizas, actividad diastasa, acidez libre y láctica, entre otros) y el contenido mineral (K, Ca, Na, Mg, Fe y demás) (Conti *et al.*, 2007). A pesar del hecho de

que el contenido mineral (ceniza) en la miel de abeja es muy bajo en comparación con sus otros componentes, existe una gran variabilidad, siendo el elemento más común el potasio. Además, la miel contiene sodio, calcio, magnesio, hierro, cobre, silicio, fósforo, azufre, y cloro, entre otros elementos (Terrab *et al.*, 2003). Estos elementos participan en la construcción de los tejidos corporales (biomoléculas), y algunos forman parte de metaloenzimas y metaloproteínas implicadas en el desarrollo y la regulación del metabolismo de diversos organismos. Estos elementos se clasifican dependiendo de su concentración en el cuerpo humano: Elementos mayoritarios (macroelementos) y elementos minoritarios (microelementos). Los macroelementos están presentes en cantidades superiores al 0.1 % del peso del cuerpo y se subdividen en elementos primarios (98 % del peso del organismo), que son indispensables para la formación de las biomoléculas: oxígeno (O), carbono (C), hidrógeno (H), nitrógeno (N), fósforo (P) y azufre (S); y en elementos secundarios: forman parte de sales minerales o iones: calcio (Ca), sodio (Na), potasio (K) y cloro (Cl). Los microelementos, elementos traza u oligoelementos, se encuentran en cantidades inferiores al 0.01 % del peso del organismo. Los principales minerales en el cuerpo humano son: calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, azufre, magnesio, manganeso, hierro, yodo, flúor, zinc, cobalto y selenio (Hernández *et al.*, 2014).

En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue determinar las concentraciones de minerales en miel de abeja de la especie *Scaptotrigona mexicana* en tres localidades de la zona centro del estado de Veracruz, durante dos años de muestreo: 2013 y 2014.

## **2.2 Materiales y métodos**

### **2.2.1 Muestras de miel**

Se evaluaron seis muestras de miel de abeja de la especie *Scaptotrigona mexicana* extraídas durante los años 2013 y 2014 en tres lugares de muestreo: Cañada Blanca (CB, 18° 57' 10.5" LN, 96° 51' 40.4" LO, 787 m de altitud), Manuel León (ML, 18° 54' 27.8" LN, 96° 57' 38.4" LO, 650 m de altitud) y Fortín de las Flores (FF, 18° 57' 10.4" LN, 96° 55' 40.4" LO, 884 m de altitud). De acuerdo con el mapa de suelos de México (SEMARNAP, 1998), los suelos que predominan en Cañada Blanca y Manuel León pertenecen al grupo de los alisoles, caracterizados por una baja saturación con bases y arcillas de alta actividad (IUSS, 2007). Los suelos de Fortín de las Flores son clasificados dentro del grupo de los vertisoles, que son suelos con condiciones alternadas de saturación-sequía y ricos en arcillas expandibles (IUSS, 2007). Se consideraron como factores de estudio el año de muestreo (AM) y el sitio de muestreo (SM). La extracción de la miel se realizó manualmente y las muestras se almacenaron en frascos de vidrio ámbar a 4 °C hasta su análisis.

### **2.2.2 Análisis nutrimental**

Para la determinación de la concentración de minerales, dos gramos de miel fueron pesados y digeridos con 5 mL de HNO<sub>3</sub> hasta evaporación, en una parrilla a una temperatura de entre 100 y 120 °C. Posteriormente la muestra fue resuspendida en 10 mL de agua desionizada según lo descrito por Fredes y Montenegro (2006). En los digeridos se analizaron los siguientes elementos: Al, B, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb, S y Zn en un equipo de espectroscopia de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES, Agilent 725-OES, Australia).

### **2.2.3 Análisis de nitrógeno soluble total**

Se realizó por el método de Kjeldahl como se describe a continuación. En un tubo se pesó 0.1 g de miel y se disolvieron en 10 mL de agua desionizada. Las disoluciones resultantes fueron destiladas y tituladas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.05 N para la estimación del N soluble total.

### **2.2.4 Análisis de resultados**

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias (Tukey,  $P \leq 0.05$ ), considerando diseño de tratamientos factorial 2 x 3 en un diseño experimental completamente al azar, donde los factores estudio fueron el año de muestreo (AM) y el sitio de muestreo (SM).

## **2.3 Resultados y discusión**

Los principales minerales en el cuerpo humano son: calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, azufre, magnesio, manganeso, hierro, yodo, flúor, zinc, cobalto y selenio (FAO, 2015). El fósforo se encuentra en todas las plantas, normalmente en altas cantidades, razón por la que en la mayoría de las dietas es un elemento suficiente. El potasio, el sodio y el cloro se absorben con facilidad y fisiológicamente son más importantes que el fósforo. Los seres humanos consumen azufre sobre todo en forma de aminoácidos que lo contienen, y cuando existen carencias de azufre en la dieta humana, éstas se relacionan con deficiencia de proteínas dietarias. No se considera común la carencia de cobre, manganeso y magnesio. Los minerales de mayor importancia en la nutrición humana son: calcio, hierro, yodo, flúor y zinc (FAO, 2015).

En el **Cuadro 2.1** se presentan los efectos principales en los factores de estudio (año y sitio de muestreo), así como su interacción en la concentración de los elementos evaluados en las muestras de miel de abeja. El año de muestreo influyó de manera significativa las concentraciones de Al, Ca, Cr, Cu, K, Mn, Na, P y Pb. Por su parte, el sitio de muestro tuvo efecto en la mayor parte de los elementos analizados, excepto en las concentraciones de Cr, Pb y Zn. El efecto de la interacción de los factores de estudio fue significativo en la mayoría de los elementos analizados, siendo la excepción Al, Mg, N y Pb.



**Cuadro 2.1.** Efectos principales de factores de estudio y de interacción en la concentración de minerales en muestras de miel de abeja sin aguijón *Scaptotrigona mexicana*, colectada en diferentes sitios y años de muestreo.

Factor de estudio	Mineral							
	Al	B	Ca	Co	Cr	Cu	Fe	K
<b>AM</b>	0.0044 *	0.0647 ns	0.0025 *	0.6269 ns	0.0056 *	0.0075 *	0.3088 ns	0.0026 *
<b>SM</b>	0.0175 *	<.0001 *	0.0162 *	0.0440 *	0.7649 ns	0.0017*	0.0081 *	<.0001 *
<b>AM*SM</b>	0.1445 ns	0.0029 *	0.0105 *	0.0072 *	0.0297 *	0.0034 *	0.0371 *	0.0031 *
Factor de estudio	Mineral							
	Mg	Mn	N	Na	P	Pb	S	Zn
<b>AM</b>	0.8378 ns	0.0002 *	0.4342ns	0.0065 *	0.0011 *	0.0062 *	0.1000 ns	0.5343 ns
<b>SM</b>	<.0001 *	<.0001 *	0.0035 *	0.0231 *	<.0001 *	0.1065 ns	0.0387 *	0.9088 ns
<b>AM*SM</b>	0.2632 ns	<.0001 *	1.0000 ns	0.0043 *	0.3381 *	0.1154 ns	0.0434 *	0.0012 *

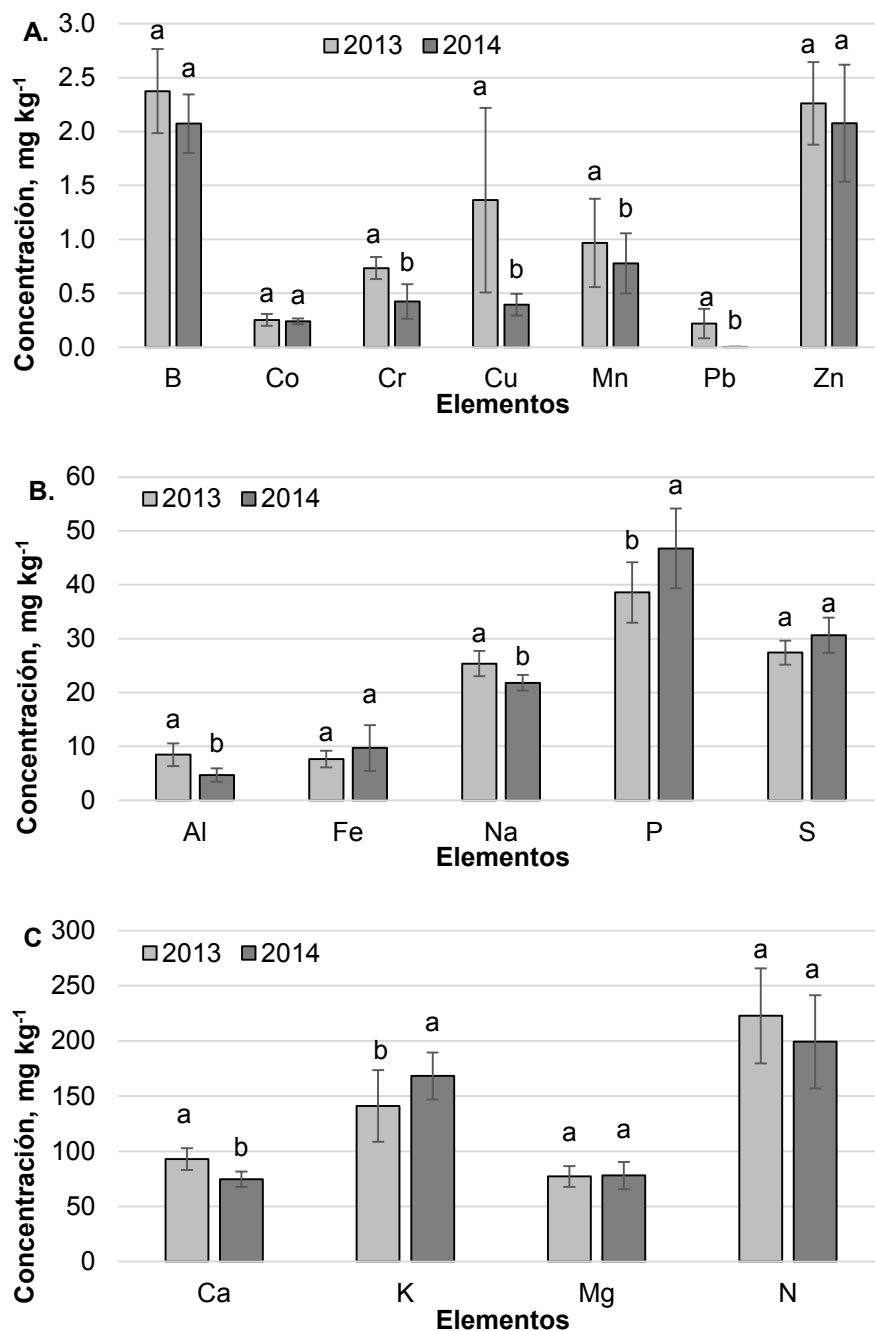
\* Significancia estadística (Tukey,  $P \leq 0.05$ ); AM: Año de muestreo; SM: Sitio de muestreo; AM x SM: Interacción de los factores año y sitio de muestreo.

### 2.3.1 Efecto principal del año de muestreo (AM)

En la Figura 1 se presentan los resultados de concentración de los elementos evaluados por año de muestreo, agrupados éstos en tres subfiguras, por intervalos de concentración. En menor concentración fueron identificados los elementos B, Co, Cr, Cu, Mn, Pb y Zn, con valores inferiores a  $2.4 \text{ mg kg}^{-1}$  (**Figura 2.1A**), siendo éstos de 2.37, 0.25, 0.73, 1.36, 0.96, 0.21 y  $2.26 \text{ mg kg}^{-1}$  respectivamente; donde se observa que para el Cr, Cu, Mn y Pb mostraron diferencia estadística significativa. Para el caso de las concentraciones de Co, Cr y Mn, los valores reportados en nuestro estudio son ligeramente inferiores a los encontrados en mieles colectadas en diferentes regiones de Chile, pues los valores para estos tres elementos fueron de 0.60, 1.92 y  $3.14 \text{ mg kg}^{-1}$  (Fredes y Montenegro, 2006), respectivamente. Para el caso de nuestro estudio, en el muestreo realizado en 2013, se observan concentraciones significativamente mayores en los elementos en comparación con el año 2014. Por otra parte, en la (**Figura 2.1B**) se observó una diferencia estadística significativa para Al, Na y P; mientras que las concentraciones de Fe y S no la presentaron. Las concentraciones fueron menores a 47 y mayores a  $4.5 \text{ mg kg}^{-1}$ ; de éstos, las concentraciones de Al y Na fueron superiores estadísticamente en el año 2013, y para el Al se presentó el máximo valor de  $8.46 \text{ mg kg}^{-1}$ . En el consumo humano la ingesta diaria es de  $30 \text{ mg kg}^{-1}$ , por tal motivo el valor aquí reportado es menor. En un estudio realizado en Chile, el valor máximo reportados para aluminio fue de  $14.29 \text{ mg kg}^{-1}$  (Fredes y Montenegro, 2006), el cual es muy superior al encontrados en nuestro estudio. Para el caso del Na, la concentración fue de  $25.35 \text{ mg kg}^{-1}$ , valor que es poco mayor a los reportados en mieles de *Apis mellifera* en Italia, cuyo valor promedio fue de  $24.5 \text{ mg kg}^{-1}$  (Conti *et al.*, 2007) de Na.

Para la colecta 2014, las concentraciones de Fe, P, S fueron mayores que para 2013, con valores de 9.70, 46.75 y 30.62 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente. En mieles de *Apis mellifera* de Nueva Zelanda (Vanhanen *et al.*, 2011) reportaron que el Fe mostró valores máximos de 3.39 mg kg<sup>-1</sup>. En las Islas Canarias (España), las mieles mostraron concentraciones de fósforo que oscilaron entre 31.62 y 58.77 mg kg<sup>-1</sup> (Fernández- Torres *et al.*, 2005).

En nuestro estudio, la **Figura 2.1C** presenta los elementos encontrados en mayor concentración respecto al año de muestreo fueron el Ca en 2013, K en 2014, Mg se presentó igual en ambas cosechas y N para el 2013; éste último con valores promedio de 211.0 mg kg<sup>-1</sup>, y no tuvo influencia del año de muestreo. Calcio y potasio tuvieron respuestas opuestas en función del año de muestreo. El Ca mostró mayor concentración en el año 2013, con un valor de 92.86 mg kg<sup>-1</sup>. En cuanto a potasio, la mayor concentración se encontró en la colecta del año 2014, con valores que fluctuaron entre 168.29 y 185.09 mg kg<sup>-1</sup>. En muestras de miel de España, el Ca mostró concentraciones de 168.8 mg kg<sup>-1</sup>, en tanto que el potasio fue de 36.40 mg kg<sup>-1</sup>, valores que contrastan con los reportados en nuestro estudio (Fernández- Torres *et al.*, 2005). Las concentraciones de Mg y de N no fueron afectadas por el año de muestreo; el magnesio presentó una concentración de 78 mg kg<sup>-1</sup>, éste valor es mayor que lo reportado en mieles de la especie *Apis mellifera* provenientes de Italia donde se obtuvo la concentración de 21.24 mg kg<sup>-1</sup> (Conti *et al.*, 2007).



**Figura 2.1** Efecto principal del año de muestreo en la concentración de elementos. Concentraciones menores a 2.4 mg kg<sup>-1</sup> (A), concentraciones menores a 47 y mayores a 4.5 mg kg<sup>-1</sup> (B) y concentraciones menores a 250 y mayores a 50 mg kg<sup>-1</sup> (C) en miel de la abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*. Medias ± DE con letras diferentes en cada elemento indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). En la mayor parte de los elementos, la concentración se expresa como mg kg<sup>-1</sup>, excepto para el N, que se expresa en mg 100 g<sup>-1</sup>.

### 2.3.2 Efecto principal del sitio de muestreo (SM)

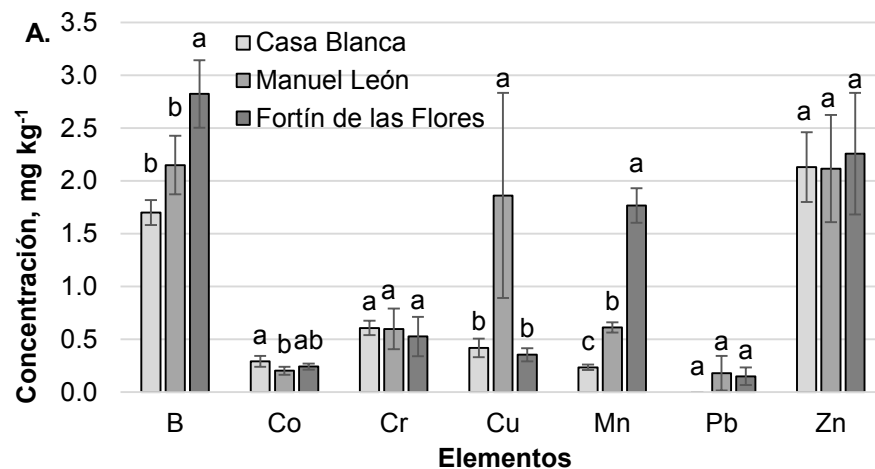
Los sitios de muestreo no ejercieron efecto sobre las concentraciones de Cr, Pb y Zn (**Figura 2.1A**). Es importante destacar que los niveles de Pb son menores a  $0.18 \text{ mg kg}^{-1}$  en Fortín de las Flores y en Manuel león, mientras que en Casa Blanca este metal pesado no fue detectado. Independientemente del sitio del sitio de muestreo, los valores oscilaron entre 0.52 y 0.60 para Cr, 0.0 y 0.17 para Pb, y 2.11 y 2.25 para Zn. En otro estudio sobre mieles de *Apis mellifera*, la concentración de plomo fue de  $0.32 \text{ mg kg}^{-1}$  (Nava-Ruiz y Méndez-Armenta, 2011), valor superior al encontrado en nuestras muestras de miel.

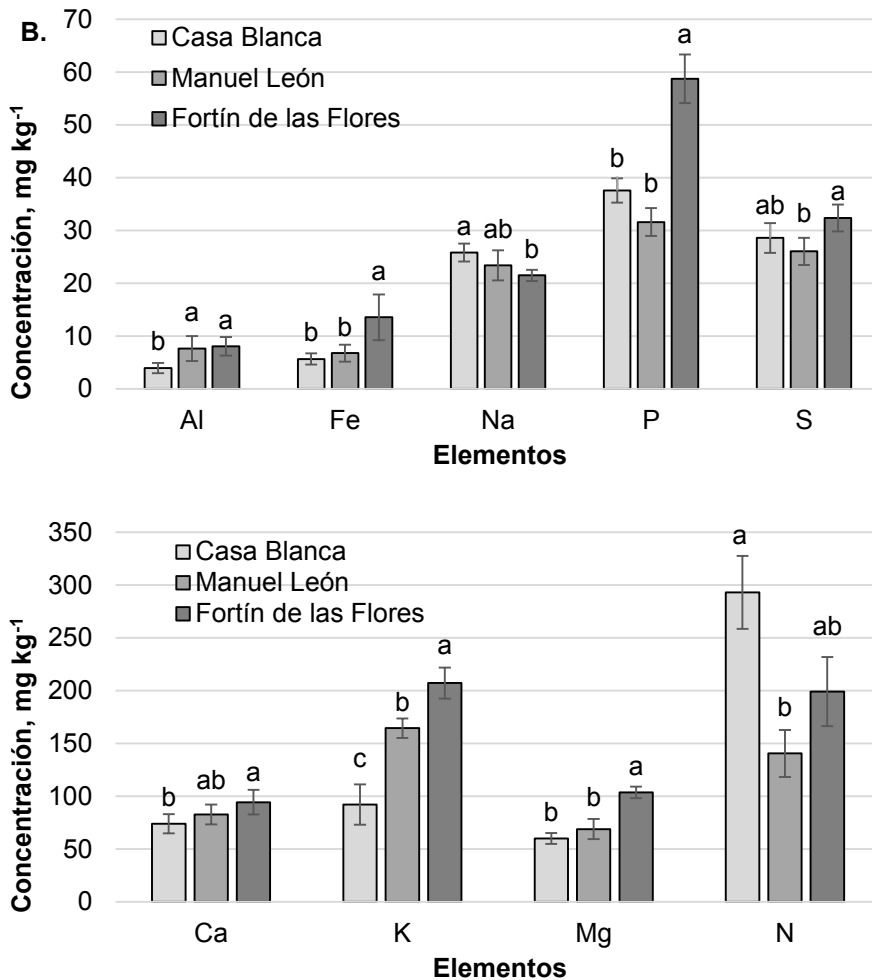
El zinc es considerado un metal esencial en la nutrición humana, y las concentraciones aquí reportadas son muy cercanas al máximo reportado por Vanhanene *et al.* (2011), siendo este máximo de  $2.46 \text{ mg kg}^{-1}$ . Con relación a las concentraciones de B, Mn y Pb, en las muestras Cañada Blanca se encuentran en menor concentración en comparación con los otros dos sitios estudiados, por otra parte la concentración de Co es mayor en dicho sitio-, para el caso de Co, Mohammed *et al.* (2011) reportaron valores de  $1.97 \text{ mg kg}^{-1}$ , los cuales son superiores a los encontrados en nuestro estudio. La miel de Manuel León solo mostró mayor concentración de Cu, con un valor de  $1.86 \text{ mg kg}^{-1}$  y Fortín de las Flores presenta mayor concentración de B, Mn Y Zn.

La **Figura 2.1B** presenta diferencia significativa para todos los tres sitios de muestreo en todos los elementos presentes en este grupo. La localidad de Cañada Blanca presento mayor concentración para el Na con una concentración de  $25.81 \text{ mg kg}^{-1}$ . Con relación a las concentraciones de Fe, P y S, las muestras de Fortín de las Flores presentaron concentraciones significativamente mayores a las mieles de Casa Blanca y de Manuel León, con concentraciones de 13.57, 58.77 y  $\text{mg kg}^{-1}$  respectivamente. La

concentración de Al fue igual en la localidad de Manuel León y el municipio de Fortín de las Flores ubicado en el grupo estadístico superior, presentando una concentración promedio de 8.11 mg kg<sup>-1</sup>. Para el caso de Co, Mohammed et al. (2011) reportaron valores de 1.97 mg kg<sup>-1</sup>, los cuales son superiores a los encontrados en nuestro estudio.

La **Figura 2.1C** está conformada por los elementos que presentaron concentraciones mayores a 47 mg kg<sup>-1</sup>. Donde se observa que el municipio de Fortín de las Flores presento la mayor concentración de Ca, K y P exceptuando al N. En un estudio realizado en Colombia a muestras de meliponas, se observó que la concentración de calcio fue de desde 76 hasta 136 mg kg<sup>-1</sup> y para el potasio fue de 279 hasta 761 mg kg<sup>-1</sup> (Zuluaga et al., 2011), las muestras aquí analizadas entran dentro de estos valores para este elemento las muestras aquí evaluadas se encuentran por debajo





**Figura 2.2** Efecto principal del sitio de muestreo en la concentración de elementos. Concentraciones menores a 2.4 mg kg<sup>-1</sup> (A), concentraciones menores a 47 y mayores a 4.5 mg kg<sup>-1</sup> (B) y concentraciones menores a 250 y mayores a 50 mg kg<sup>-1</sup> (C) en miel de la abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes en cada elemento indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). En la mayor parte de los elementos, la concentración se expresa como mg kg<sup>-1</sup>, excepto para el N, que se expresa en mg 100 g<sup>-1</sup>.

### 2.3.3 Efecto de la interacción del año (AM) y sitio de muestreo (SM)

En el **Cuadro 2.2** se presenta el análisis de concentración considerando la interacción de los factores de estudio destacan las altas concentraciones de N y Na en

mieles provenientes de Cañada Blanca en 2013. El N en la miel está presente en forma de sustancias nitrogenadas como ácidos nucleicos, aminoácidos, proteínas, entre otros (Vit *et al.*, 1998). En las muestras de miel que caracterizamos en este estudio se presentaron concentraciones de N 304.79 hasta 128.95 mg g<sup>-1</sup>, comparativamente superiores a los valores reportados en otras mieles de abejas sin aguijón, que fluctúan entre 0.014 y 0.144 mg g<sup>-1</sup> (Souza *et al.*, 2006). Esta gran divergencia puede ser debida a que las mieles del estudio citado provenían de diferente origen geográfico, en tanto que en las nuestras los sitios eran muy cercanos y contiguos, todos localizados en la zona centro del estado de Veracruz, México.

Para el sodio la concentración de nuestras mieles fue de 28.07 mg kg<sup>-1</sup>, en tanto que en mieles españolas este elemento se ha encontrado en concentraciones de 75.7 mg kg<sup>-1</sup> (Fernández-Torres *et al.*, 2005).

En la interacción de Cañada Blanca y el año 2013 presento una menor concentración de cromo y potasio siendo de 0.56 y 56.97 mg kg<sup>-1</sup>, pero la mayor concentración de Co mostrando un valor de 0.36 mg kg<sup>-1</sup>; en este mismo sitio pero su interacción con el año 2014 el Al, B, Ca, Mg, Mn y Pb presentaron las concentraciones más bajas siendo de 3.60, 1.54, 58.5, 59.44, 0.21 y 0 mg kg<sup>-1</sup>, este último también es nulo para Fortín de las Flores en su interacción para el año 2014.

Las mieles de Fortín de las Flores para el año 2014 mostraron la mayor concentración de Al, Fe, K, P, S y Zn, 10.98, 18.44, 213.44, 108.88, 65.12, 36.19 y 3.06 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente. Por su parte, este mismo municipio pero en el año 2013 mostro las mayores concentraciones de B con 3.35 mg kg<sup>-1</sup>, Ca con 109.62 mg kg<sup>-1</sup> y Mn con 2.05 mg kg<sup>-1</sup>.



La miel de Manuel León en el 2013 presenta en forma general, valores ms altos de concentración, en comparación con las mieles colectadas en los dos sitios restantes para Cr, Cu y Pb, siendo de 0.89, 3.25 y 0.35 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente.

**Cuadro 2.2** Efectos de interacción del año y sitio de muestreo en concentración elemental (en mg kg<sup>-1</sup>, excepto N que está expresada en mg 100 g<sup>-1</sup>) en miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*.

AM	SM	Al	B	Ca	Co	Cr	Cu	Fe	K
2013	CB	4.34±0.14bc	1.87±0.11bc	89.62±5.30ab	0.36±0.05a	0.56±0.02ab	0.46±0.08b	5.99±1.30b	56.97±3.46d
2014		3.60±1.41c	1.54±0.05c	58.50±2.93c	0.23±0.02ab	0.65±0.10ab	0.38±0.11b	5.37±0.90b	127.66±2.00c
2013	ML	10.98±1.37a	1.91±0.20bc	79.35±6.34bc	0.15±0.00b	0.89±0.06a	3.25±0.95a	8.27±1.95ab	165.40±3.26bc
2014		4.34±1.41bc	2.39±0.32b	86.37±1.96abc	0.26±0.04ab	0.31±0.15b	0.47±0.12b	5.30±0.83ab	163.77±6.20bc
2013	FF	10.09±1.98ab	3.35±0.19a	109.62±11.49a	0.25±0.04ab	0.75±0.13ab	0.38±0.03b	8.71±1.29b	201.06±9.12ab
2014		6.14±0.81abc	2.30±0.13bc	79.30±5.25bc	0.23±0.03ab	0.31±0.18b	0.33±0.09b	18.44±9.22a	213.44±19.87a
AM	SM	Mg	Mn	N	Na	P	Pb	S	Zn
2013	CB	60.64±6.29b	0.26±0.02d	304.79±40.61a	28.07±1.40a	34.68±2.20cd	0.00±0.00a	25.64±2.02b	2.49±0.26ab
2014		59.44±4.53b	0.21±0.03d	281.34±35.16ab	23.56±1.19ab	40.53±1.57c	0.00±0.00a	31.57±2.90ab	1.77±0.32ab
2013	ML	72.26±4.50b	0.59±0.06c	152.39±10.15ab	27.65±2.19a	28.63±2.21d	0.35±0.20a	28.01±3.50ab	2.84±0.32ab
2014		65.69±5.00b	0.64±0.03c	128.95±20.15b	19.19±1.43b	34.62±2.34cd	0.01±0.01a	24.11±0.94b	1.39±0.39b
2013	FF	98.53±3.96a	2.05±0.07a	211.00±35.16ab	20.35±0.88b	52.43±2.08b	0.30±0.03a	28.57±0.56ab	1.45±0.15b
2014		108.88±5.90a	1.48±0.05b	187.56±36.60ab	22.68±0.97ab	65.12±4.26a	0.00±0.00a	36.19±2.24a	3.06±0.57a

Medias ± DE con letras distintas en cada elemento, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ); AM: Año de muestreo; SM: Sitio de muestreo; CB: Cañada Blanca, ML: Manuel León y FF: Fortín de las Flores.

## **2.4 Conclusiones**

Se concluye que las muestras evaluadas presentan diferencia significativa en las concentraciones de los elementos determinados tanto para el año como el sitio de muestreo; de los 16 elementos evaluados con lo que respecta, a la muestra que presentó mayor concentración de Bo, Mn, Zn, Fe, P, Ca, K y Mg fue la proveniente del municipio de Fortín de las Flores; mientras que la que presentó menor concentración de éstos fue la de la localidad de Manuel León, cabe destacar que hubo baja o nula presencia de Pb en todas las mieles evaluadas.

## Literatura citada

- Álvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E. & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health: A review. *Mediterranean Journal Nutrition and Metabolism*, 3, 15-23.
- Conti, M.E. (2000). Lazio region (central Italy) honeys a survey of mineral content and typical quality parameters. *Food Control*, 11, 459-463.
- Conti, M.E., Stripeikis, J., Campanella, L., Cucina, D. & Tudino, M.B. (2007). Caracterización de mieles italianas (Región Marche) sobre la base de su contenido mineral y algunos parámetros de calidad típicos. *Journal Química Central*, 1, 14-20.
- FAO, 2015. Nutrición humana en el mundo en desarrollo, Cap. 10 Minerales. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0e.htm>
- Fernández-Torres, R., Pérez-Bernal, J.L., Bello-López, M.Á., Callejón-Mochón, M., Jiménez-Sánchez, J.C. & Guiraúm-Pérez, A. (2005). Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. *Journal Talanta*, 65, 686-691.
- Fredes, C. & Montenegro, G. (2006). Heavy metal and other trace elements contents in Chilean honey. *Ciencia e Investigación Agraria*, 33, 50-58.
- Golob, T., Doberšek, U., Kump, P. & Necemer, M. (2005). Determination of trace elements in Slovenian honey by total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. *Food Chemistry*, 91, 593-600.
- González-Miret, M.L., Terrab, A., Hernandez, D., Fernández-Recamales, M.Á. & Heredia, F.J. (2005). Multivariate correlation between color and mineral

- composition of honeys and by their botanical origin. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 53, 2574-2580.
- Hernández, J.R., Pérez, M.J.B. & Espinosa, R.M.M. (2014). Propuesta de una nueva clasificación de los oligoelementos para su aplicación en nutrición, oligoterapia, y otras estrategias terapéuticas. *Nutrición Hospitalaria*, 31, 1020-1033.
- Lachman, J., Koliňová, D., Miholová, D., Kořata, J., Titera, D. & Kul, K. (2007). Analysis of minority honey components: Possible use for the evaluation of honey quality. *Food Chemistry*, 101, 973-979.
- Ma, L. (2009). International comparison of the export competitiveness of Chinese honey. *Asian Agricultural Research*, 1, 17-20.
- Majejczyk, M. & Baralkiewicz, D. (2008). Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. *Analytica Chimica Acta*, 617, 11-17.
- Mohammed, M., Muhammed, A.Z.C., Mohammad, A.R., Siti, A.S. & Siew, H.G. (2014). Determination of Mineral, Trace Element, and Pesticide Levels in Honey Samples Originating from Different Regions of Malaysia Compared to Manuka Honey. *BioMed Research International*, 10, 1-9.
- Nava-Ruiz, C. & Méndez-Armenta, M. (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Neurociencia*, 16, 140-147.
- Serrano, SM., Villarejo, E.R. & Jodral, M. (2004). Química y parámetros físicos de la miel andaluza: Clasificación de los cítricos y de eucalipto mieles mediante análisis discriminante. *Food Chemistry*, 87, 619-625.

- Soria, A.C., González, M., De Lorenzo, C., Martínez-Castro, I. y Sanz, J. (2004). Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. *Food Chemistry*, 85, 121-130.
- Souza, B., Roubik, D., Barth, O., Heard, T., Enríquez, E. & Car, V.C. (2006). Composition of stingless bee honey: Setting quality standards. *Interciencia*, 31, 867-875.
- Terrab, A., Gonzalez, G.A., Diez, M.J. & Heredia, F.J. (2003). Mineral content and electrical conductivity of the honeys produced in Northwest Morocco and their contribution to the characterisation of unifloral honeys. *Journal Science Food and Agriculture*, 83, 637-643.
- Terrab, A., Recamales, A.F., González-Miret, M.L. & Heredia, F.J. (2005). Contribution to the study of avocado honeys by their mineral contents using inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Food Chemistry*, 92, 305-309.
- Vanhanen, L.P., Emmertz, A. and Savage, G.P. (2011). Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. *Food Chemistry*, 128, 236-240.
- Vit, P., Persano, L., Marano, M. & Salas, E. (1998). Venezuelan stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. *Apidologie*, 29, 377-389.
- Zuluaga, C. M., Díaz, M. C. & Quizacan, M. C. (2011). Quimiometria aplicada a la direnciación por origen de productos de las abejas. *Alimentos hoy*, 20, 23-46.

### **CAPÍTULO 3. Análisis Cromatográfico de Miel de Abeja *Scaptotrigona mexicana***

López-Garay Luz Anel<sup>1</sup>, Trejo-Téllez Libia I.<sup>2\*</sup>, Contreras-Oliva Adriana<sup>1</sup>, Gómez-

Merino Fernando C<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Carretera Córdoba-Veracruz, km 348. Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C.P. 94946.

(lopez.luz@colpos.mx), (adricon@colpos.mx), (fernandg@colpos.mx).

<sup>2</sup> Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco, km 36.5. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C.P. 56230. (tlibia@colpos.mx).

#### **RESUMEN**

Este trabajo se realizó a seis muestras de miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana* del municipio de Fortín de las Flores (FF, 18° 57' 10.4" LN, 96° 55' 40.4" LO, 884 m de altitud) y las localidades de Cañada Blanca (CB, 18° 57' 10.5" LN, 96° 51' 40.4" LO, 787 m de altitud) y Manuel León (ML, 18° 54' 27.8" LN, 96° 57' 38.4" LO, 650 m de altitud) pertenecientes al municipio de Amatlán de los Reyes del estado de Veracruz, México, cosechadas en los años 2013 y 2014. Se determinó el contenido de ácido ascórbico (Vitamina C) y azúcares (glucosa, sacarosa y maltosa) por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Se consideraron como factores de estudio el sitio de muestreo, el año de muestreo y su interacción, estos fueron sometidos a análisis de varianza y pruebas de comparación de medias (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

**Palabras clave:** ácido ascórbico, azúcares, cromatografía líquida de alta resolución, Amatlán de los Reyes, miel.

## ABSTRAC

This work was performed six honey samples of stingless bee species *Scaptotrigona mexicana* municipality of Fortin de las Flores (FF, 18° 57 '10.4 "LN, 96° 55' 40.4" LO, 884 m), and Cañada Blanca locations (CB, 18° 57 '10.5 "LN, 96° 51' 40.4" LO, 787 m) and Manuel Leon (ML, 18° 54 '27.8 "LN, 96° 57' 38.4" LO 650 m) belonging to the municipality of Amatlán de los Reyes of Veracruz, Mexico, harvested in 2013 and 2014. The content of ascorbic acid (vitamin C) and sugars (glucose, sucrose and maltose) was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). They were considered as factors study the sampling site, sampling year and their interaction, these were subjected to analysis of variance and comparison tests (Tukey,  $P < 0.05$ ).

**Keywords:** ascorbic acid, sugar, high resolution liquid chromatography, Amatlán de los Reyes, honey.



### 3.1 Introducción

La miel se produce en casi todos los países del mundo y se considera un importante alimento energético; sin embargo, no se puede considerar como un alimento completo para los estándares nutricionales humanos, sino que constituye más bien un suplemento dietético potencial (Rodríguez *et al.*, 2004). La miel contiene alrededor de 200 compuestos (Tomoi-Sato e Ir-Miyat, 2000), y es básicamente un 20 % de agua, 38 % de fructosa, 31 % glucosa, 8 % de disacáridos (más de 20 están identificados), 2 % en otros azúcares, y el resto es otras diversas sustancias como ácidos orgánicos, enzimas, compuestos aromáticos, flavonoides y vitaminas. En los últimos compuestos, las vitaminas, las vitaminas solubles en agua, y especialmente la vitamina C por su carácter antioxidante, son los más importantes. En los últimos diez años se han encontrado muy pocas referencias sobre la determinación de vitamina C en la miel. Estas pocas referencias reportan que esta determinación se llevó a cabo tradicionalmente por el método colorimétrico después de la derivatización en presencia de oxidantes y por método volumétrico en presencia de 2,6-dicloroindofenol (AOAC, 2005; Guler *at al.*, 2007). Recientemente, la vitamina C se ha determinado por cromatografía en fase inversa de alto rendimiento líquido (RP-HPLC) en modo isocrático, con una fase móvil de metanol/agua a pH 2.5. Este método es rápido, no requiere tratamiento de la muestra y el tiempo de retención para la vitamina C es de aproximadamente 5 min (Castro *et al.*, 2001). El método estándar para medir la vitamina C es la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), ya que es una técnica más sensible y específica para los métodos espectrofotométricos y no requiere derivatización, los principales detectores utilizados para la cuantificación de este detector de vitamina ultravioleta (UV) y electroquímico (EC) (Cavia *et al.*, 2002).

Los azúcares en la miel son responsables de las propiedades tales como la viscosidad, higrometría, granulación y valor energético. La miel se usa como un ingrediente en cientos de alimentos manufacturados (Sanz *et al.*, 2005). Oligosacáridos Miel presentan potenciales (valores de índice prebióticas entre 3.38 y 4.24) la actividad prebiótica, aumentando las poblaciones de bifidobacterias y lactobacilos.

En el contexto anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar las concentraciones de vitamina C y azúcares como glucosa, sacarosa y maltosa en miel de abeja de la especie *Scaptotrigona mexicana* que se desarrolla en la zona centro del estado de Veracruz, México.

## **3.2 Materiales y métodos**

### **3.2.1 Material Biológico**

Se analizaron muestras de miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*, las cuales fueron cosechadas en dos periodos mayo de 2013 y 2014, del municipio de Fortín de las Flores (FF, 18° 57' 10.4" LN, 96° 55' 40.4" LO, 884 m de altitud), y las comunidades de Manuel León (ML, 18° 54' 27.8" LN, 96° 57' 38.4" LO, 650 m de altitud) y Cañada Blanca (CB, 18° 57' 10.5" LN, 96 ° 51' 40.4" LO, 787 m de altitud) del municipio de Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. Estas se extrajeron manualmente y fueron almacenadas en frascos de vidrio color ámbar a 4 °C para su análisis posterior.

### **3.2.2 Determinación de vitamina C por HPLC**

La determinación de la vitamina C se realizó por un método de RP-HPLC en modo isocrático, utilizando un equipo HPLC (Agilent Technologies, modelo 1200, USA), con un sistema de bomba cuaternaria, la columna utilizada fue una Ciano (5  $\mu$ m 4.6 mm x 25 cm BECKMAN, USA). Para las condiciones de las lecturas se utilizó un flujo de 9 mL por min a una temperatura de 25 °C, utilizando como fase móvil 100 % de agua HPLC (J. T. Baker, USA) ajustando el pH a 2.5 con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (J.T. Baker, USA). Se preparó una curva de calibración de 0.1 hasta 2 mg, diluyéndolos en un matraz aforado de 100 mL con agua de pH ajustado. Para la muestra se pesaron 5 g diluyéndolos en un matraz de 100 mL con agua, posteriormente se filtraron con una membrana de acetato de celulosa de 0.45  $\mu$ m (Thermo Scientific, USA); una vez realizado esto se colocaba en un vial color ámbar de 2 mL, para realizar su lectura.

### **3.2.3 Determinación de azúcares por HPLC**

El análisis de azúcares se realizó en un equipo HPLC (Agilent Technologies, modelo 1200, USA), con detector IR (Agilent Technologies, modelo 1260, USA), se utilizó una columna de calcio (7 mm x 30 cm SUPELCOGEL CA), se utilizó un flujo de 0.3 mL por min, a una temperatura de 80 °C, utilizando como fase móvil 100 % de agua HPLC (J. T. Baker, USA); se preparó una curva de calibración que iban desde 0.0102 hasta 0.0118 g de sacarosa, de maltosa de 0.8 a 1.6 g y de glucosa de 4.2 a 10 g, diluyéndolos en 25 mL de agua HPLC (J. T. Baker, USA), para después trasvasar a un matraz de 100 mL que contenía metanol HPLC (J. T. Baker, USA), una vez realizado y colocarlo en el vial para su lectura se pasó a través de un filtro de membrana de nylon de 0.45  $\mu$ m. La muestra se trató de igual manera que los

estándares pesando 5 g diluyéndolos en 25 mL de agua y trasvasando en un matraz que contenía 75 mL de metanol, posteriormente se filtraron con una membrana de nylon 0.45 µm (Thermo Scientific, USA); una vez realizado esto se colocaba en un vial color ámbar de 2 mL, para realizar su lectura.

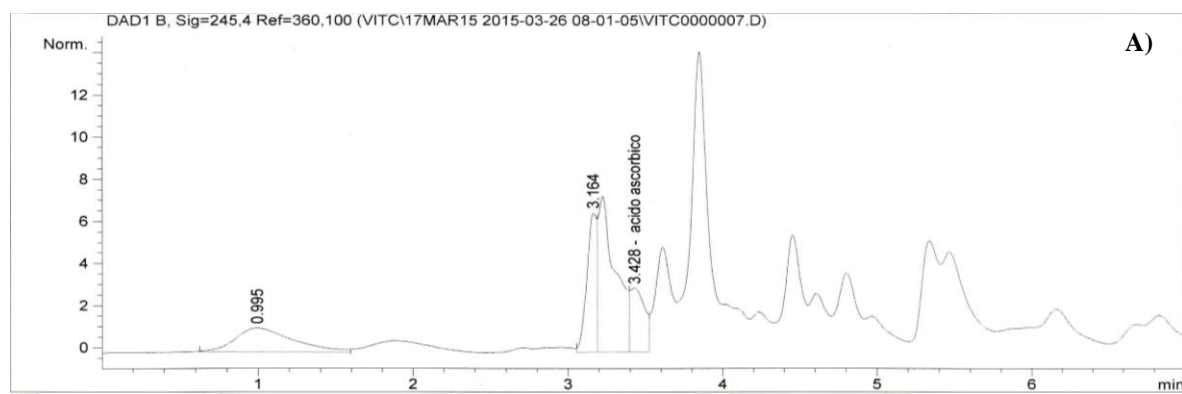
### 3.2.4 Análisis de resultados

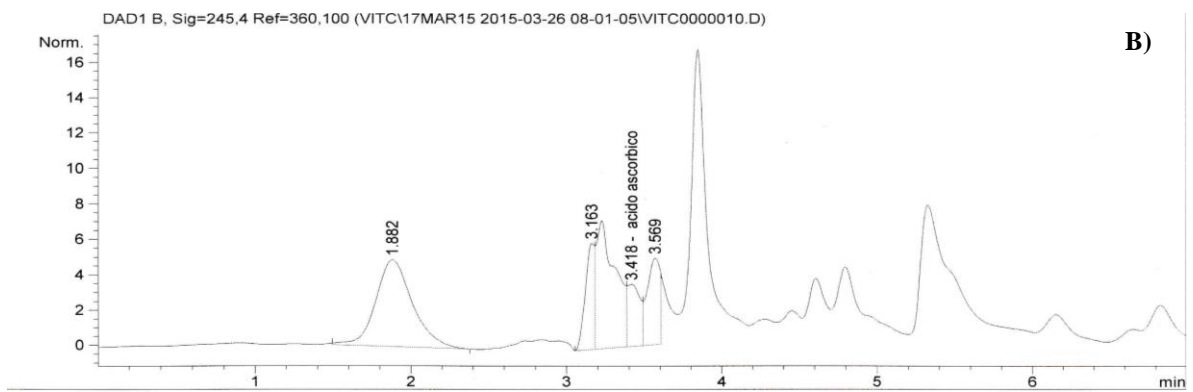
Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias (Tukey,  $P \leq 0.05$ ), considerando diseño de tratamientos factorial 2 x 3 en un diseño experimental completamente al azar, donde los factores estudio fueron el año de muestreo (AM) y el sitio de muestreo (SM).

## 3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.3.1 Determinación de vitamina C por HPLC

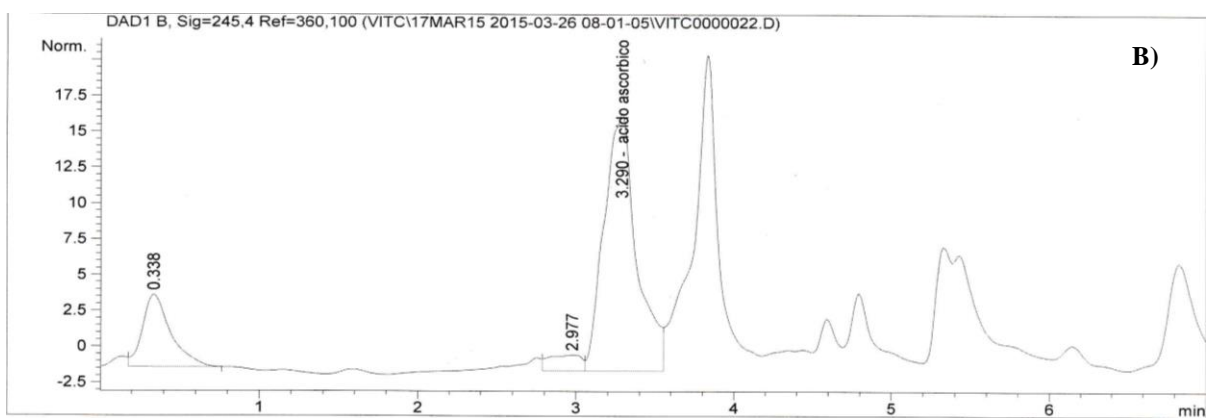
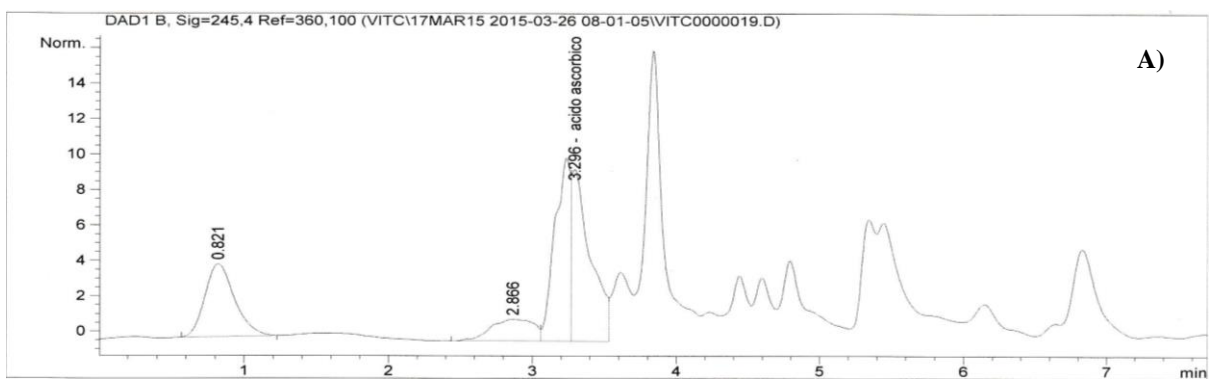
Se elaboró una curva de calibración desde 0.1 hasta 2 mg en las mismas condiciones que las muestras, donde se obtuvo un tiempo de elución entre 3.2 y 3.4 min. En la **Figura 3.3.1.1** se presenta el cromatograma de la muestra perteneciente a Cañada Blanca 2013 (A) y 2014 (B).





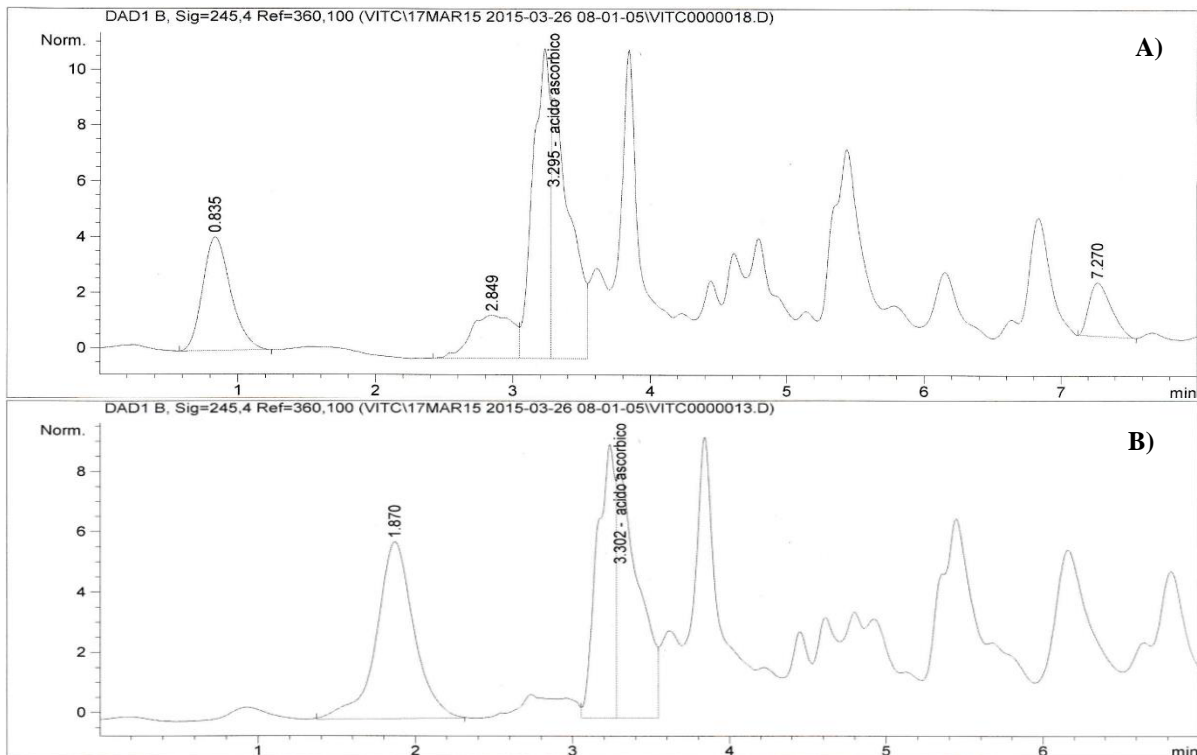
**Figura 3.3.1.1** Cromatograma de muestra de miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana* del sitio Cañada Blanca cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).

En la **Figura 3.3.1.2** se presentan los cromatogramas obtenidos del análisis de la muestra perteneciente a Fortín de las Flores 2013 (A) y 2014 (B).



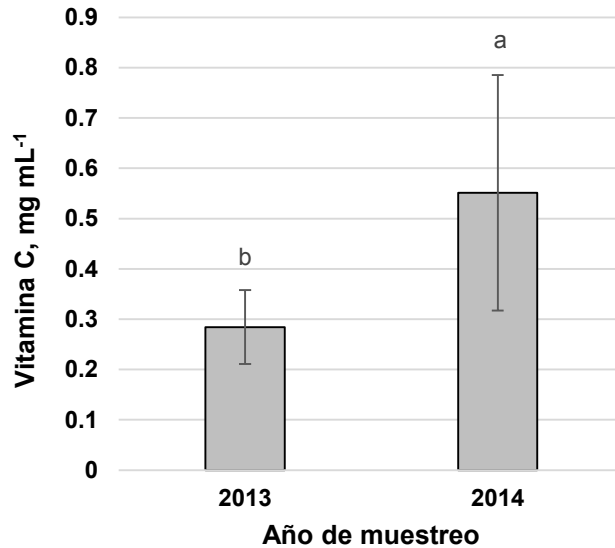
**Figura 3.3.1.2** Cromatograma de muestra de miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana* del sitio Fortín de las Flores cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).

En la **Figura 3.3.1.3** se presentan los cromatogramas de la muestra perteneciente a Manuel León 2013 (A) y 2014 (B).



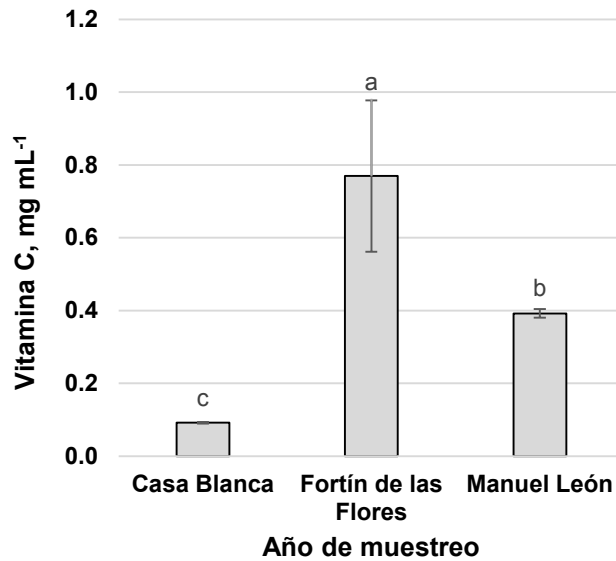
**Figura 3.3.1.3** Cromatograma de muestra de miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana* del sitio Manuel León cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).

En la **Figura 3.3.1.4** se observan las concentraciones de vitamina C en las muestras de miel de abejas nativas respecto al año de muestreo, que con el análisis estadístico se observa la formación de dos grupos estadísticos, uno para cada año de muestreo. Para el año 2014 se presentó la concentración de  $0.55 \text{ mg mL}^{-1}$ , casi el doble respecto al año 2013 donde la concentración fue de casi  $0.3 \text{ mg mL}^{-1}$ , los cuales son valores menores de acuerdo al estudio de León-Ruiz *et al.* (2011), donde se reportaron valores promedio que oscilaron de 2.11 hasta  $10.66 \text{ mg mL}^{-1}$ .



**Figura 3.3.1.4** Efecto principal del año de muestreo en la concentración de vitamina C en miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

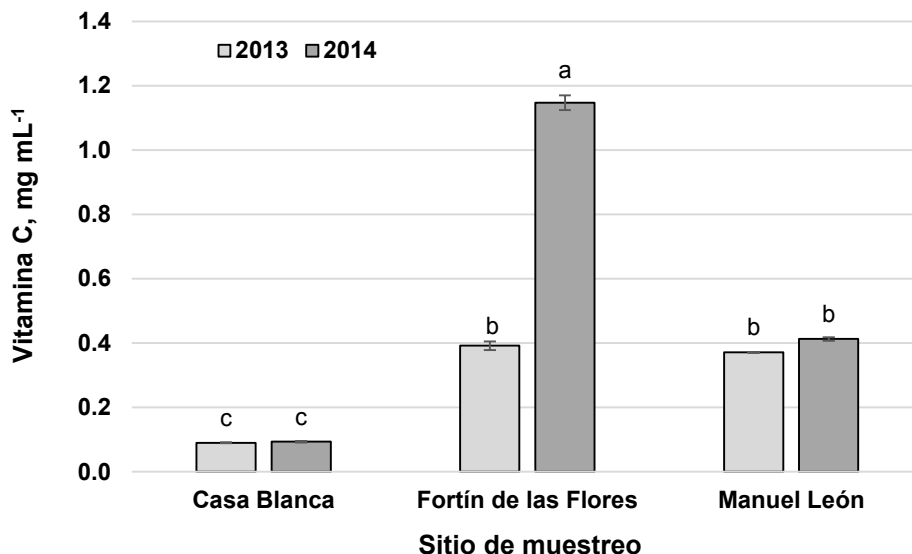
La **Figura 3.3.1.5** hace referencia a los sitios de muestreo, donde se observó que el municipio de Fortín de las Flores presentó la mayor concentración de vitamina C con un valor de casi 0.8 mg mL<sup>-1</sup>. Por otra parte, la muestra de Cañada Blanca mostró la concentración más baja con un valor de 0.1 mg mL<sup>-1</sup>. En general, estos valores son menores en comparación con las concentraciones reportadas por León-Ruíz *et al.* (2011) a mieles monoflorales de tomillo y lavanda provenientes de España, que presentaron valores desde 1.74 hasta 4.63 mg mL<sup>-1</sup>.



**Figura 3.3.1.5** Efecto principal del sitio de muestreo en la concentración de vitamina C en miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Respecto a la interacción de los factores de estudio se observa en la **Figura 3.3.1.6** que la relación de Fortín de las Flores y el año 2014 mostró la mayor concentración de  $1.1 \text{ mg mL}^{-1}$  en comparación con el año 2013, que presentó una concentración de  $0.4 \text{ mg mL}^{-1}$ . Por otro lado las interacción de Cañada Blanca y Manuel León relacionado con los dos años de cosecha presentaron la formación de un grupo estadístico, pero a su vez se observa que las concentraciones fueron de  $0.09$  y  $0.4 \text{ mg mL}^{-1}$ , respectivamente.

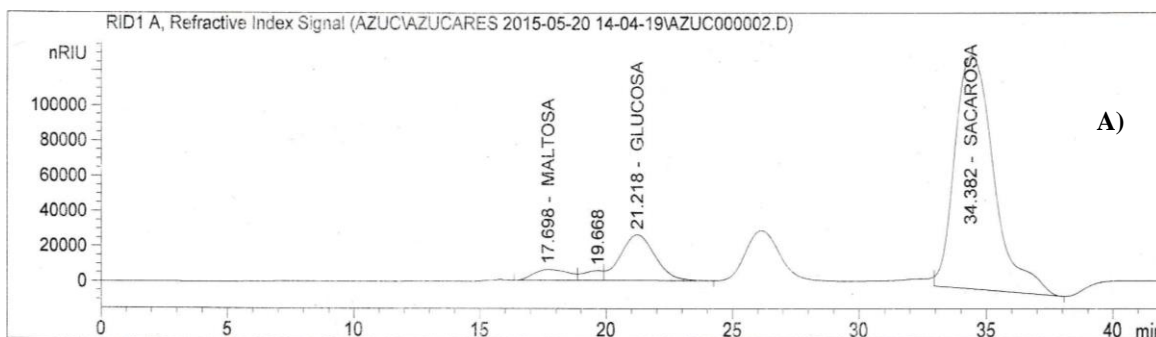


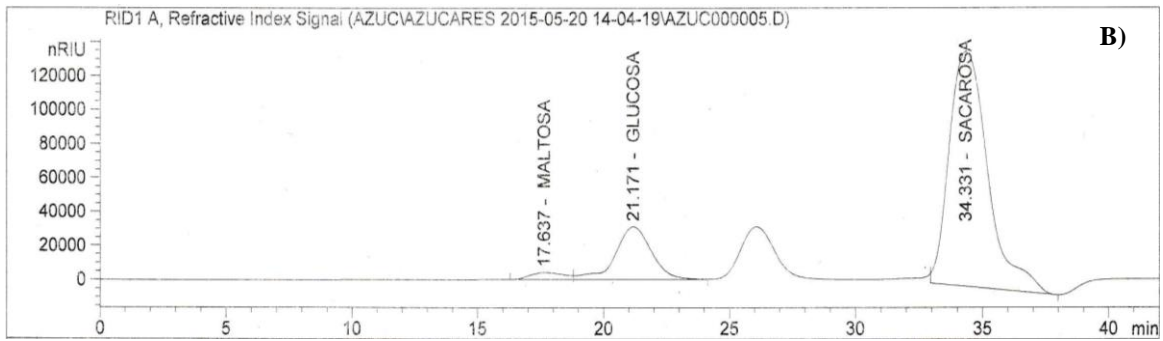


**Figura 3.3.1.6** Efecto de la interacción del año y sitio de muestreo en la concentración de miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana*. Medias  $\pm$  DE con letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

### 3.3.2 Determinación de azúcares por HPLC

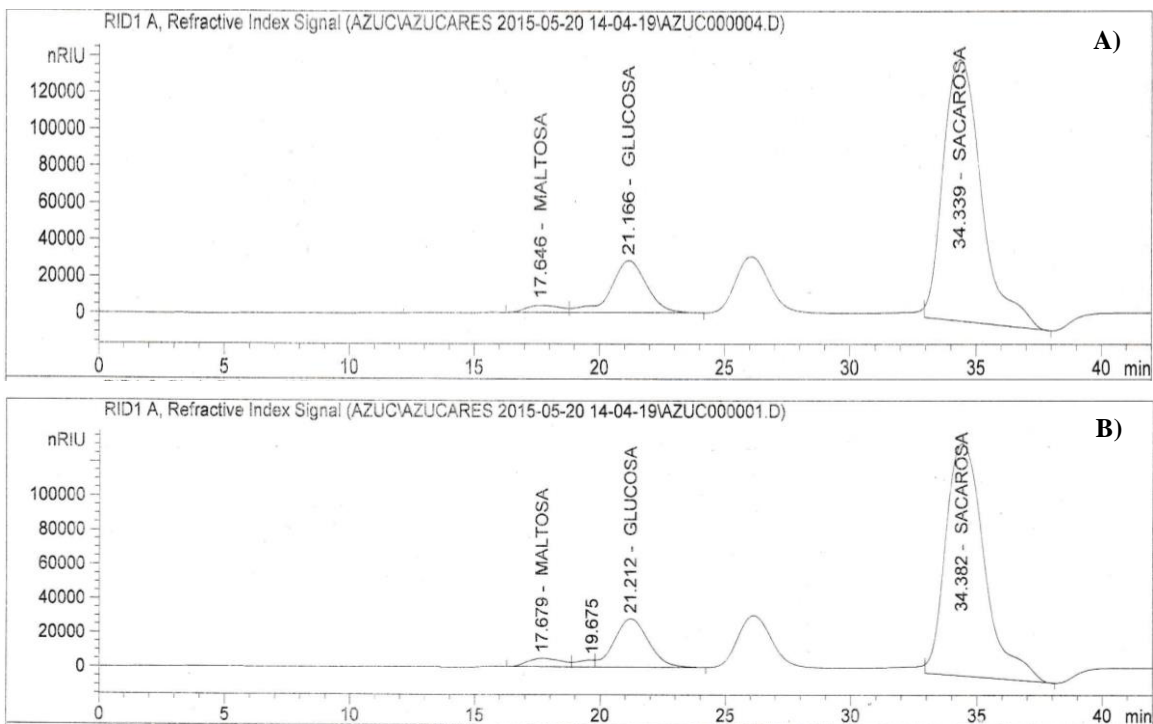
En la **Figura 3.3.2.1** se presentan los cromatogramas obtenidos de la muestra de Manuel León, para el año 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B), muestras elucidadas después de inyectar la curva de calibración donde los tiempos de retención para maltosa, glucosa y sacarosa fueron de 17.6, 21.1 y 34.3 min, respectivamente.





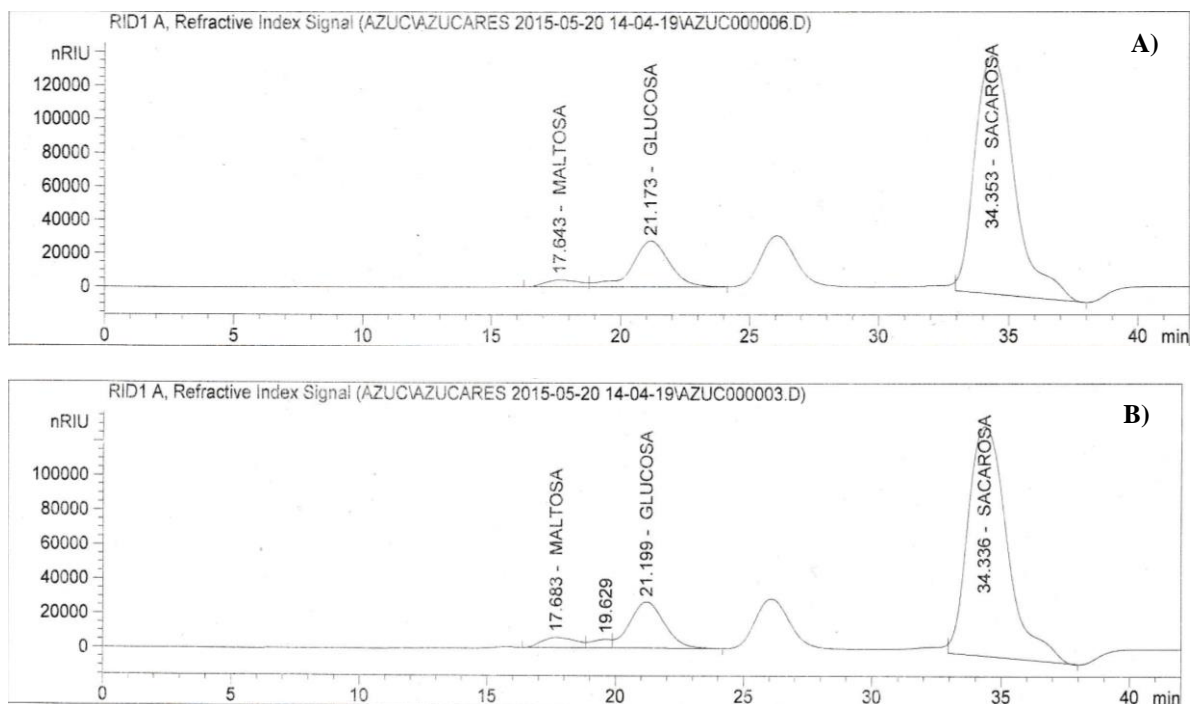
**Figura 3.3.2.1** Cromatograma de muestra de miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana* del sitio Manuel León cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).

En la **Figura 3.3.2.2** se presentan los cromatogramas obtenidos de la muestra de Fortín de las Flores, para el año 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).



**Figura 3.3.2.2** Cromatograma de muestra de miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana* del sitio Fortín de las Flores cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).

En la **Figura 3.3.2.3** se presentan los cromatogramas obtenidos de la muestra de Cañada Blanca, para el año 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B),



**Figura 3.3.2.3** Cromatograma de muestra de miel de abeja sin aguijón de la especie *Scaptotrigona mexicana* del sitio Cañada Blanca cosechada en el 2013 (subfigura A) y 2014 (subfigura B).

En el **Cuadro 3.3.2.1** se presentan los efectos principales en los factores de estudio (año y sitio de muestreo), así como su interacción en la concentración de azúcares en las muestras de miel de abeja. En ninguno de los factores de estudio se observó diferencia significativa estadística.

**Cuadro 3.3.2.1** Efectos principales de factores de estudio y de interacción en la concentración de minerales en muestras de miel de abeja sin agujón de la especie *Scaptotrigona mexicana*.

Factor de estudio	Glucosa	Maltosa	Sacarosa
<b>AM</b>	0.5 ns	0.6 ns	0.7 ns
<b>SM</b>	0.9 ns	0.9 ns	0.2 ns
<b>AM*SM</b>	0.9 ns	0.9 ns	0.4 ns

\* Significancia estadística (Tukey,  $P \leq 0.05$ ); AM: Año de muestreo; SM: Sitio de muestreo; AM x SM: Interacción de los factores año y sitio de muestreo.

El **Cuadro 3.3.2.2** muestra las concentraciones en relación al sitio de muestreo, donde a pesar de no existir diferencia significativa entre lugares evaluados se observa que hay una mayor concentración de glucosa y maltosa en la muestra de la localidad de Manuel León con valores de 5.49 y 1.57 g/g miel, la muestra que tuvo las concentraciones más bajas fue la de Cañada Blanca con concentraciones de 5.14 g g<sup>-1</sup> de miel de glucosa y 1.47 g g<sup>-1</sup> de miel para maltosa, respecto a la sacarosa se localiza en las mismas concentraciones para los tres sitios de muestreo. Los valores aquí reportados de glucosa son menores a los observados por Vit *et al.* (2006), donde se reportan valores de 28.60 y 27.57 g g<sup>-1</sup> de miel en muestras de *Melipona beecheii* provenientes de Venezuela y Guatemala.

**Cuadro 3.3.2.2** Efecto principal del sitio de muestreo en la concentración de azúcares de acuerdo al sitio de muestreo en miel de abeja sin agujón de la especie *Scaptotrigona mexicana*.

Sitio de muestreo	Glucosa		Maltosa		Sacarosa	
CB	5.28±1.06	a	1.54±0.22	a	0.02±0.0002	a
FF	5.14±1.20	a	1.47±0.14	a	0.02±0.0001	a
ML	5.49±1.21	a	1.57±0.23	a	0.02 ±0.0004	a

Letras diferentes muestras diferencia significativa. Lugar: CB, Cañada Blanca; ML, Manuel León; FF, Fortín de las Flores.

El **Cuadro 3.3.2.3** muestra las concentraciones respecto al año de muestreo, donde se observa que las muestras del año 2013 tienen una mayor concentración de glucosa, en tanto que la maltosa se encuentra en mayor concentración en el año 2014 y la sacarosa en las mismas concentraciones para ambos años. Los valores de sacarosa fueron menores a los reportados en muestras de *Melipona beecheii* provenientes de Venezuela y Guatemala donde la sacarosa fluctuó entre 4.60 y 9.12 g g<sup>-1</sup> de miel (Vit *et al.*, 2006).

**Cuadro 3.3.2.3** Efecto principal del año de muestreo en la concentración de azúcares de acuerdo a la fecha de muestreo en miel de abeja sin agujón de la especie *Scaptotrigona mexicana*.

Año de muestreo	Glucosa		Maltosa		Sacarosa	
2013	5.74 ± 1.23	a	1.46 ± 0.23	a	0.02± 0.0003	a
2014	4.88 ± 0.95	a	1.59 ± 0.15	a	0.02± 0.0002	a

Letras diferentes muestras diferencia significativa.

En el **Cuadro 3.3.2.4** se observa la interacción entre el sitio y año de muestreo donde se observó que para glucosa la muestra de Manuel León del año 2013 es la que presentó el mayor contenido presentando un valor de 6.20 g g<sup>-1</sup> de miel; para la maltosa la mayor concentración se presentó en el mismo sitio pero en la interacción del año 2014 con una concentración de 1.65 g g<sup>-1</sup> de y lo que respecta a sacarosa todos la interacción de los tres sitios con ambos años de muestreo tuvieron el mismo comportamiento, este último presenta una concentración muy baja, aunque en un estudio realizado a muestras de la misma especie la presencia de sacarosa fue nula (Souza *et al.*, 2006).

**Cuadro 3.3.2.4** Efecto de la interacción de los factores de estudio en la concentración de azúcares de acuerdo a la fecha de muestreo en miel de abeja sin agujón de la especie *Scaptotrigona mexicana*.

Sitio de muestreo	Año de muestreo	Glucosa		Maltosa		Sacarosa	
CB		5.77±1.22	a	1.51±0.3	a	0.02±0.00001	a
FF	2013	5.23±1.44	a	1.57±0.18	a	0.02 ±0.00005	a
ML		6.20±1.52	a	1.49±0.3	a	0.02 ±0.0005	a
CB		4.79±1.03	a	1.57±0.17	a	0.02±0.0003	a
FF	2014	5.05±1.24	a	1.55 ±0.11	a	0.02±0.0001	a
ML		4.79±0.98	a	1.65±0.20	a	0.02±0.0003	a

Letras diferentes muestras diferencia significativa. Lugar: CB, Cañada Blanca; ML, Manuel León; FF, Fortín de las Flores.

### **3.4 Conclusión**

Se concluye la que la muestra proveniente del municipio de Fortín de las Flores presentó la mayor concentración de vitamina C, siendo de  $1.1 \text{ g mL}^{-1}$ ; con lo que respecta a los azúcares evaluados no hubo diferencia entre sitio ni año de muestreo, pero si se presentó una mayor concentración en la muestra de la localidad de Manuel León, con valores para glucosa de  $5.45 \text{ g g}^{-1}$  de miel, para maltosa de  $1.57 \text{ g g}^{-1}$  de miel y para sacarosa  $0.02 \text{ g g}^{-1}$  de miel.

## Literatura citada

- AOAC International: Official methods of analysis. (2005). 18th ed. 44, p. 40. Gaithersburg, MD.
- Castro, R.N., Azeredo, L.C., Azeredo, M.A. & Sampaio, C. (2001). HPLC assay for the determination of ascorbic acid in honey samples. *Journal Liquid Chromatography and Related Technologies*, 24, 1015-1020.
- Cavia, M. M., Fernández-Muñoz, M. A., Gómez-Alonso, E., Montes Pérez, M. J., Huidobro, J. F. & Sancho, M. T. (2002). Evolution of fructose and glucose in honey over one year: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 78, 157-161.
- Guler, A., Bakan, N. A. & Yavuz, O. C. (2007). Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure unadulterated honey and sucrose. *Food Chemistry*, 105, 1119-1125.
- León-Ruiz, V., Vera, S., González-Porto, A.V. & San Andrés, M.P. (2011). Vitamin C and sugar levels as simple markers for discriminating Spanish honey sources. *Journal Food Science*, 76, 356-361.
- Sanz, M.L., Polemis, N., Morales V., Corzo, N., Drakoularakou, A., Gibson, G.R. & Rastal, R.A. (2005). In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 53, 2914-2921.
- Souza, B., Roubik, D., Barth, O., Heard, T., Enriquez, E., Carvalho, C. & Vit, P. (2006). Composition of stingless bee honey: Setting quality standards. *Interciencia*, 31, 867-875.



- Tomoi-Sato, M.D. & Ir-Miyata, M.D. (2000). El beneficio nutracéutico, Parte III: la miel. *Nutrición*, 16, 468-479.
- Rodríguez, G. O., de Ferrer, B. S., Ferrer, A., & Rodríguez, B. (2004). Characterization of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*, 84, 499-502.
- Vit, P., Enriquez, E., Barth, M. O., Matsuda, A. H. & Almeida-Muradian, L. (2006). Necesidad del control de calidad de la miel de abejas sin aguijón. *Revista de Facultad de Medicina*, 15, 89-95.