



**Universitat Autònoma de Barcelona**

Departament de Ciència Animal i dels Aliments

Facultat de Veterinària

**"CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y  
EVALUACIÓN SANITARIA DE LA MIEL DE  
MOZAMBIQUE"**

**Tesis Doctoral por:**

Eduarda Maria Flora Zandamela Mungói

**Bajo la dirección de:**

Dra. M<sup>a</sup> Teresa Mora Ventura

Dra. Consuelo Pérez Arquillué

Dr. Emiliano Quinto Fernández

Para optar al grado de Doctor en Veterinaria

Bellaterra (Cerdanyola Del Vallès), 2008

## **DEDICATORIA**

Aos meus queridos filhinhos,  
Bruno, Marito e Welington (Welly).

## **AGRADECIMIENTOS**

A través de este estudio quiero expresar mis agradecimientos:

A la Profesora Doctora Maria Teresa Mora Ventura, por todo su apoyo y dirección, tutoría y su permanente disponibilidad y por todas sus cualidades personales, sin las cuales difícilmente habría realizado el presente estudio.

A la Profesora Doctora Consuelo Pérez Arquillué, por su dirección, tutoría para la realización del presente estudio.

Al Profesor Doctor Emiliano José Quinto Fernández, por su apoyo, para la realización de este estudio.

A la Facultade de Veterinaria de la Universidade Eduardo Mondlane de Mozambique en especial a la dra Adelina Machado por su apoyo para la realización del presente estudio.

Al Ministerio de la Industria y Comercio de Mozambique por su apoyo en los desplazamientos a España.

Al Instituto Nacional de Normalización y Cualidad de Mozambique que han permitido mi estancia y estudios en España.

A la Agencia de Cooperación Espanyola por su apoyo para la realización de la Tesis

A todos los que directa o indirectamente han contribuido para que este trabajo fuese posible.

A mi familia, mis padres, mis hermanas Julia y Marta por todo el apoyo, cariño y amor especial a mis niños por soportar a una madre siempre ausente.

A mi esposo Mario compañero y amigo por todo el apoyo para que yo siguiera adelante.

# ÍNDICE





## INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE ABREVIATURAS .....	IX
INDICE DE FIGURAS .....	XI
INDICE DE TABLAS .....	XIV
INDICE DE RESULTADOS ESTADISTICOS .....	XVI
RESUMEN.....	XIX
ABSTRACT .....	XXI
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	7
2.1. APICULTURA EN MOZAMBIQUE.....	7
2.1.1. La abeja melífera.....	7
2.1.2. La miel.....	8
2.1.3. Clasificación de la miel. ....	9
2.1.4. Zonas geográficas de producción de miel en Mozambique .....	10
2.1.5. Vegetación y climatología. ....	15
2.1.6. Sistemas de explotación apícolas.....	16
2.1.7. Sistemas productivos y de comercialización .....	22
2.1.7.1. Condiciones de obtención de la miel.....	22
2.1.7.2. Producción de miel.....	24
2.1.7.3. Comercialización .....	24
2.1.8. Otros Productos Apícolas .....	25
2.1.8.1. La cera.....	25
2.1.8.2. El veneno .....	25
2.1.8.3. Jalea real .....	25
2.1.8.4. Polen .....	26
2.1.8.5. Propóleos .....	26
2.1.8.6. Hidromiel .....	26
2.2. PARÁMETROS DE CALIDAD .....	27
2.2.1. ECOLOGÍA MICROBIANA.....	29
2.2.2. PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE CALIDAD .....	32
2.2.2.1. pH.....	32
2.2.2.2. Actividad de agua ( $a_w$ ) .....	33
2.2.2.3. Conductividad eléctrica .....	36

---

2.2.2.4. Tipos de acidez.....	37
2.2.2.5. Sólidos insolubles y sólidos totales .....	39
2.2.2.6. Color .....	39
<b>2.2.3. PARÁMETROS QUÍMICOS DE LA MIEL.....</b>	<b>42</b>
2.2.3.1. Humedad .....	42
2.2.3.2. Azúcares. ....	44
2.2.3.3. Cristalización de la miel.....	51
2.2.3.4. Elementos minerales. Cenizas .....	54
<b>2.2.4. FRESCURA DE LA MIEL .....</b>	<b>57</b>
2.2.4.1. Actividad diastásica.....	57
2.2.4.2. Hidroximetilfurfural (HMF). ....	59
<b>III. OBJETIVOS.....</b>	<b>65</b>
3.1. Objetivos Generales .....	65
3.2. Objetivos Específicos.....	65
<b>IV. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>69</b>
<b>4.1. MATERIAL EXPERIMENTAL .....</b>	<b>69</b>
4.1.1. Recogida de datos .....	69
4.1.2. Recogida de muestras.....	69
<b>4.2. MÉTODOS .....</b>	<b>71</b>
4.2.1. Encuesta .....	71
4.2.2. Obtención de las muestras .....	73
4.2.3. Preparación de las muestras analíticas .....	74
4.2.4. Análisis microbiológicos. ....	74
<b>4.3. DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS.....</b>	<b>75</b>
4.3.1. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos .....	75
4.3.2. Recuento de <i>Enterobacteriaceae</i> .....	75
4.3.3. Recuento de Clostridios Sulfito-Reductores .....	76
4.3.4. Recuento de Mohos y Levaduras .....	76
<b>4.4. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE ESTABILIDAD .....</b>	<b>77</b>
4.4.1. pH.....	77
4.4.2. Actividad del agua ( $a_w$ ) .....	77
4.4.3. Conductividad eléctrica (CE).....	77
4.4.4. Tipos de acidez: libre, láctica y total .....	78
4.4.5. Color .....	79



---

<b>4.5. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA .....</b>	<b>81</b>
4.5.1. Contenido en humedad .....	81
4.5.2. Contenido en azúcares .....	81
4.5.2.1. Glucosa y fructosa .....	82
4.5.2.2. Sacarosa.....	82
4.5.3. Cenizas.....	83
4.5.4. Sólidos Insolubles .....	84
4.5.5. Sólidos Totales .....	85
<b>4.6. FRESCURA DE LA MIEL .....</b>	<b>85</b>
4.6.1. Hidroximetil furfural (HMF) .....	85
4.6.2. Actividad diastásica.....	86
<b>4.7. ANÁLISIS Y TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.....</b>	<b>89</b>
4.7.1. Prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov (K-S):.....	89
4.7.2. Análisis de la Variancia .....	89
4.7.3. Prueba de Tukey para Comparaciones Múltiplas .....	90
4.7.4. Analisis no Parametrico de la Variancia de Kruskal-Wallis.....	90
<b>4.8. ANALISIS MULTIVARIANTES.....</b>	<b>91</b>
4.8.1. Analisis de componentes principales .....	91
4.8.2. Análisis de Conglomerados (CLUSTERS).....	92
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>97</b>
<b>5.1. ENCUESTA .....</b>	<b>97</b>
5.1.1. Colmenas .....	97
5.1.2. Zonas apícolas.....	98
5.1.3. Método de extracción de la miel.....	99
5.1.4. Producción y comercialización de la miel .....	105
<b>5.2. ECOLOGIA MICROBIANA.....</b>	<b>105</b>
5.2.1. Recuentos de Aerobios Mesófilos.....	105
5.2.2. Recuentos de mohos y levaduras.....	107
5.2.3. Recuentos de <i>Enterobacteriaceae</i> .....	109
5.2.4. Recuentos de Clostridium Sulfito-Reductores.....	109
<b>5.3. ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICOS.....</b>	<b>110</b>
<b>5.3.1. CONTENIDO DE AGUA Y PARÁMETROS RELACIONADOS.....</b>	<b>110</b>
5.3.1.1. Humedad .....	110
5.3.1.2 Actividad de agua (Aw).....	112

<b>5.3.2. AZÚCARES Y PARÁMETROS RELACIONADOS</b> .....	114
5.3.2.1. Azúcares Totales.....	114
5.3.2.2. Contenido de Fructosa, Glucosa y Sacarosa.....	114
5.3.2.3. Sólidos Insolubles y Sólidos Totales.....	118
5.3.2.4. Índice Fructosa/ Glucosa y Índice Porcentual Fructosa/Sólidos Totales ...	119
<b>5.3.3. PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL CONTENIDO DE MINERALES</b> .....	121
5.3.3.1. Conductividad eléctrica.....	121
5.3.3.2. Cenizas.....	123
<b>5.3.4. ACIDEZ Y PARÁMETROS RELACIONADOS</b> .....	124
5.3.4.1. Acidez Libre.....	124
5.3.4.2. Acidez Lactónica y Acidez Total.....	126
5.3.4.3. pH.....	128
5.3.4.4. Relación Acidez Lactónica /Acidez Libre .....	130
<b>5.3.5. PARÁMETROS RELACIONADOS CON FRESCURA</b> .....	131
5.3.5.1 Hidroximetilfurfural (HMF).....	131
5.3.5.2. Índice de Diastasa (ID).....	132
<b>5.3.6. PARÁMETROS DEL COLOR</b> .....	134
<b>5.4. CORRELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS</b> .....	138
<b>5.5. HUMEDAD Y ACTIVIDAD DE AGUA CORRELACIONADOS CON DIFERENTES PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS</b> .....	141
<b>5.6. AZÚCARES Y SUS CORRELACIONES CON OTROS PARÁMETROS FÍSICO- QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS</b> .....	144
Se han estudiado las correlaciones entre los diferentes azúcares (Tabla 35) así como éstos con otros parámetros físico-químicos y microbiológicos con un valor $p < 0,05$ .....	
<b>5.7. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA, CENIZAS Y SÓLIDOS: CORRELACIÓN CON OTROS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS</b> .....	148
<b>5.8. ACIDEZ Y PH: CORRELACIÓN CON OTROS PARÁMETROS FÍSICO- QUÍMICOS</b> .....	152
<b>5.9. CORRELACIONES ENTRE LOS PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA FRESCURA</b> .....	155
<b>5.10. CORRELACIONES ENTRE LOS PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL COLOR DE LA MIEL</b> .....	158
<b>5.11. ANÁLISIS MULTIVARIANTES PARA LA DIFERENCIACIÓN Y/ O CLASIFICACIÓN DE LAS MIELES DE MOZAMBIQUE</b> .....	163
5.11.1. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES .....	163
5.11.2. CLASIFICACIÓN MIXTA.....	170
5.11.3. CARACTERIZACIÓN DE CADA GRUPO .....	172

<b>VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>179</b>
<b>VII. GRAFICAS Y TABLAS DE RESULTADOS ESTADÍSTICOS.....</b>	<b>185</b>
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>221</b>

**INDICE DE ABREVIATURAS**

A	color rojo o verde
Aw	actividad de agua
AL	acidez libre
ALCT	acidez lactónica
ALCT_AL	relación acidez lactónica/acidez libre
ATOT	acidez total
AOAC	analítica oficial análisis química
B	color amarillo o azul
CE	conductividad eléctrica
CAB	croma
C/T	canalizada o tratada
DELTAE	diferencias de color
F	fructosa
F_G	relación fructosa/glucosa
F_ST	relación fructosa/sólidos totales
G	glucosa
H	humedad
HAB	tono
HMF	hidroximetilfurfural
ID	índice de diastasa
IMF	intermediun moisture food
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications for Food
L	luminosidad
Log/g	logaritmo por gramo
LOGPCA	logaritmo de aerobios mesófilos

LOGRB	logaritmo de mohos y levaduras
Meq/g	miliequivalentes por gramo
N	número
R/L	rio o lago
SAB	saturación
ST	sólidos totales
SLI	sólidos insolubles
S	sacarosa
KTBH	kenian top Bar

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Abeja <i>Apis mellífera Scutellata</i> (Abeja Africana) .....	7
Figura 2. Mapa de Mozambique .....	11
Figura 3. Region A (Manica) .....	13
Figura 4. Región B (Sofala) .....	13
Figura 5. Región C Inhambane .....	14
Figura 6. Región D (Maputo) .....	14
Figura 7. Colmena Tradicional de Corteza .....	20
Figura 8. Colmenas de Transición.....	20
Figura 9. Colmenas de Transición KTBH.....	21
Figura 10. Colmenas Móviles Langstroth .....	21
Figura 11. Colmenas Móviles Horizontales .....	22
Figura 12. Localización de las muestras de miel recogidas de mieles de Mozambique. ....	70
Figura 13. Cuadro Operculado .....	100
Figura 14. Prensado de Panales.....	101
Figura 15. Centrifugación de Panales .....	102
Figura 16. Envasado de Miel.....	102
Figura 19. Correlación de LogPCA/ SLI de la miel. ....	140
Figura 20. Correlación de LogRB/ AW de la miel .....	140
Figura 21. Correlación de H /LogRB de la miel. ....	140
Figura 22. Correlación de ALCT/LogRB de la miel.....	140
Figura 23. Correlación de Aw / H de la miel. ....	142
Figura 24. Correlación de ST / H de la miel. ....	142
Figura 25. Correlación de H / ALCT de la miel. ....	142
Figura 26. Correlación de H / pH de la miel. ....	142
Figura 27. Correlación de Glucosa / H de la miel. ....	143
Figura 28. Correlación de pH / Aw de la miel. ....	143
Figura 29. Correlación de Aw / H, AL de la miel. ....	143
Figura 30. Correlación de Aw /ALCT, H, ST de la miel. ....	143
Figura 31. Correlación de Relacion F_G /Fde la miel. . ....	146
Figura 32. Correlación de Relacion F_ST/ F miel. ....	146
Figura 33. Correlación F_ST/ A.Totales de miel. ....	146
Figura 34. Correlación de Glucosa/ Fructosa de miel.....	146
Figura 35. Correlación de Sacarosa / Fructosa de miel. ....	147

---

Figura 36. Correlación de Sacarosa/ Glucosa de miel. ....	147
Figura 37. Correlación Glucosa /Acidez total de miel. ....	147
Figura 38. Correlación de Rel.F_ST /G de miel. ....	147
Figura 39. Correlación entre pH, H, Glucosa de miel. ....	147
Figura 40. Correlación entre F, G, S, ID de la miel. ....	147
Figura 41. Correlación de Cenizas/CE de la miel. ....	149
Figura 42. Correlación de Cenizas/pH de la miel. ....	149
Figura 43. Correlación de Cenizas/AL de la miel. ....	150
Figura 44. Correlación de Cenizas/AL de la miel. ....	150
Figura 45. Correlación de CE/ AL de la miel. . ....	150
Figura 46. Correlación de CE/ pH de la miel. ....	150
Figura 47. Correlación de ST/ ALCT de la miel. ....	150
Figura 48. Correlación de CE/ ST/SLI de la miel. ....	150
Figura 49. Correlación de CE/Cenizas/AL/pH de la miel. ....	151
Figura 50. Correlación de SLI/G/S de la miel. ....	151
Figura 51. Correlación de pH /ALCT de la miel. ....	153
Figura 52. Correlación de pH /ALCT de la miel. ....	153
Figura 53. Correlación de pH /Aw de la miel. ....	154
Figura 54. Correlación de AL /ATOT de la miel. ....	154
Figura 55. Correlación de ALCT /ATOT de la miel. ....	154
Figura 56. Correlación de ALCT/Aw de la miel. ....	154
Figura 57. Correlación de RelALCT_AL /ALCTde la miel. ....	154
Figura 58. Correlacion CE/CENIZAS/AL/PH. ....	154
Figura 59. Correlación ID/HMF de la miel. ....	156
Figura 60. Correlación ATOT/HMF de la miel. ....	156
Figura 61. Correlación CE/ID de la miel. ....	156
Figura 62. Correlación CE/ID de la miel. ....	156
Figura 63. Correlación Sacarosa/CE la miel. ....	157
Figura 64. Correlación ID/CE/Sacarosa de la miel. ....	157
Figura 65. Correlación de rojo (A) /L de la miel. ....	159
Figura 66. Correlación de amarillo (B) /L de la miel. ....	159
Figura 67. Correlación de L/DELTAE de la miel. ....	160
Figura 68. Correlación de L/HMF de la miel. ....	160
Figura 69. Correlación de L/CE de la miel. ....	160
Figura 70. Correlación de L/Glucosa de la miel. ....	160

---

Figura 71. Correlación de DELTAE/rojo (A) la miel. ....	160
Figura 72. Correlación de DELTAE/B de la miel. ....	160
Figura 73. Correlación de DELTA/CE la miel. ....	161
Figura 74. Correlación de B/HMF de la miel.....	161
Figura 75. Correlación de rojo (A) /HMF la miel. ....	161
Figura 76. Correlación de rojo (A) /L de la miel. ....	161
Figura 77. Correlación de croma /ID de la miel. ....	161
Figura 78. Correlación de CAB /HMF de la miel.....	161
Figura 79. Correlación de rojo (A) /L de la miel. ....	162
Figura 80. Correlación de TOT, AL /L de la miel. ....	162
Figura 81. Correlación de L /AL de la miel. ....	162
Figura 82. Correlación de L /SLI de la miel. ....	162
Figura 83. Gráfica de las variables activas estudiadas .....	167
Figura 84. Gráfica de las variables activas observando regiones y época de recogida.....	168
Figura 85. Gráfica dendograma respecto las muestras de miel.....	171
Figura 86. Gráfica de clasificación y distribución de las muestras de miel. ....	176



## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Di- y tri-sacáridos de la miel, según Moreira y De Maria (2001).....	46
Tabla 2. Grados de cristalización en función de varios índices según Serra (1989).....	54
Tabla 3. Modelo de encuesta.....	72
Tabla 4. Características del sistema de obtención de la miel.....	103
Tabla 5. Características higiénico-sanitarias del sistema de explotación de la miel:.....	104
Tabla 6. Aerobios mesófilos de la miel de las diferentes regiones, en (log ufc/g).....	105
Tabla 7. Mohos y levaduras de la de miel de las diferentes regiones, en (log/ufc).....	107
Tabla 8. Humedad de la de la de miel de las diferentes regiones, en % (m/m). ....	110
Tabla 9. Actividad de agua ( $a_w$ ) de la miel de las diferentes regiones, en % (m/m). ....	112
Tabla 10. Azúcares totales (métodos químicos), en % (m/m) de la miel de las diferentes regiones. ....	114
Tabla 11. Contenido de Fructosa en % (m/m) de la miel de las diferentes regiones. ....	114
Tabla 12. Contenido de Glucosa en % (m/m) de la miel de las diferentes regiones.....	115
Tabla 13. Contenido de Sacarosa en % (m/m) de la miel de las diferentes regiones.....	116
Tabla 14. Sólidos insolubles en (%) de la miel de las diferentes regiones. ....	118
Tabla 15. Sólidos Totales en % de la miel de las diferentes regiones.....	119
Tabla 16. Relación fructosa / glucosa de la miel de las diferentes regiones. ....	119
Tabla 17. Relación Fructosa/ Sólidos totales en % de la miel de las diferentes regiones.....	120
Tabla 18. Conductividad eléctrica (mS/cm) de la miel de las diferentes regiones. ....	121
Tabla 19. Cenizas en (%) de la miel de las diferentes regiones. ....	123
Tabla 20. Acidez libre en (meq/kg) de la miel de las diferentes regiones. ....	124
<b>Tabla 21.</b> Acidez láctica en (meq/kg) de la miel de las diferentes regiones. ....	126
Tabla 22. Acidez total en (meq/kg) de la miel de las diferentes regiones.....	127
Tabla 23. pH de la miel (solución 10 g de miel + 75 mL agua) de las diferentes regiones. ..	128
Tabla 24. Relación entre la acidez láctica/acidez libre de la miel de las diferentes regiones. ....	130
Tabla 25. Contenido de HMF en (mg/kg) de la miel de las diferentes regiones.....	131
Tabla 26. Contenido de Índice de diastasa en ° Gothe de miel de las diferentes regiones.....	132
Tabla 27. Valores de L* (luminosidad) de la miel de las diferentes regiones (Iluminante D65, 10°).....	134
Tabla 28. Valores de a* (color rojo - verde) de la miel de las diferentes regiones (Iluminante D65, 10°).....	135
Tabla 29. Valores de b* (color amarillo - azul) de la miel de las diferentes regiones (Iluminante D65, 10°).....	135
Tabla 30. Valores de C* <sub>ab</sub> (Croma) de la miel de las diferentes regiones (Lluminante D65, 10°).....	136
Tabla 31. Valores de H* <sub>ab</sub> (Tono) de la miel de las diferentes regiones (Lluminante D65, 10°).....	137
Tabla 32. Valores de S* <sub>ab</sub> (saturación) de la miel de las diferentes regiones (Iluminante D65, 10°).....	137
Tabla 33. Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p de los parámetros microbiológicos y físico químicos. ....	139
Tabla 34. Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p de los parámetros relacionados con el contenido de agua y actividad de agua.....	141
Tabla 35. Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p de los parámetros relacionados con Azúcares.....	144
Tabla 36. Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p.....	148

---

Tabla 37. Coeficiente de correlación de Pearson entre variables relacionadas con acidez y el valor de p.....	152
Tabla 38. Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p.....	155
Tabla 39. Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p.....	158
Tabla 40. Componentes principales con el porcentaje de inercia respectivo.....	164
Tabla 41. Coordenadas de variables activas – Factores de Correlación.....	165
Tabla 42. Componentes de 1 al 5 respecto las variables cualitativas o categóricas.....	166
Tabla 43. Ejes de valores de test de 1 al 5 de los grupos obtenidos.....	171
Tabla 44. Estadística discriptiva de las variables positivas estudiadas en grupo 1.....	172
Tabla 45. Estadística discriptiva de las variables positivas estudiadas en grupo 2.....	172
Tabla 46. Estadística discriptiva de las variables positivas estudiadas en grupo 3.....	173
Tabla 47. Estadística discriptiva de las variables positivas estudiadas en grupo 4.....	174

## INDICE DE RESULTADOS ESTADISTICOS

Figura VII- 1. Valores de aerobios mesófilos de la miel en (log ufc/g) en las diferentes regiones de Mozambique. ....	185
Figura VII- 2. Valores de aerobios mesófilos de la miel en (log ufc/g) según la época de recogida. ....	185
Figura VII- 3. Valores de Mohos y levaduras de la miel en (log ufc/g) en las diferentes regiones de Mozambique. ....	187
Figura VII- 4. Valores de Mohos y levaduras de la miel en (log ufc/g) según la época de recogida. ....	187
Figura VII- 5. Valores de la humedad de la miel en (%) en las diferentes regiones de Mozambique. ....	189
Figura VII- 6. Valores de la humedad de la miel en (%) según la época de recogida de las muestras. ....	189
Figura VII- 7. Valores de la actividad de agua en (%) de la miel en las diferentes regiones de Mozambique. ....	191
Figura VII- 8. Valores de la actividad de agua en (%) de la miel según la época de recogida de muestras. ....	191
Figura VII- 9. Valores de Azucares de la miel en % (m/m) en las diferentes regiones de Mozambique. ....	193
Figura VII- 10. Valores de Fructosa de la miel en % en las diferentes regiones de Mozambique. ....	194
Figura VII- 11. Valores de Fructosa de la miel en % según la época de recogida de muestras. ....	194
Figura VII- 12. Valores de Glucosa de la miel % (m/m) en las diferentes regiones de Mozambique. ....	195
Figura VII- 13. Valores de Glucosa de la miel en % según la época de recogida de muestras. ....	195
Figura VII- 14. Valores de Sacarosa de la miel en % en las diferentes regiones de Mozambique. ....	196
Figura VII- 15. Valores de Sacarosa de la miel en % en las diferentes regiones de Mozambique. ....	196
Figura VII- 16. Valores de la relación Fructosa/ Glucosa de la miel en % en las diferentes regiones de Mozambique. ....	197
Figura VII- 17. Valores de Relación porcentual Fructosa/ Sólidos totales de la miel % en las diferentes regiones de Mozambique. ....	198
Figura VII- 18. Valores de Conductividad eléctrica de la miel (mS/cm) en las diferentes regiones de Mozambique. ....	199
Figura VII- 19. Valores Cenizas de la miel (%) en las diferentes regiones de Mozambique	200
Figura VII- 20. Valores cenizas de la miel (%) según la época de recogida. ....	200
Figura VII- 21. Valores Sólidos insolubles de la miel (%) en las diferentes regiones de Mozambique. ....	201
Figura VII- 22. Valores sólidos insolubles de la miel (%) según la época de recogida. ....	202
Figura VII- 23. Gráfico de Sólidos totales de la miel (%) en las diferentes regiones de Mozambique. ....	202
Figura VII- 24. Valores de acidez libre de la miel (meq/kg) en las diferentes regiones de Mozambique. ....	203
Figura VII- 25. Valores de la acidez libre de la miel (meq/kg) según la época de recogida.	204

---

Figura VII- 26. Valores de acidez lactónica de la miel (meq/kg) según las diferentes regiones .....	205
Figura VII- 27. Valores de la acidez lactónica de la miel (meq/kg) según la época de recogida. ....	205
Figura VII- 28. Valores de la acidez total de la miel (meq/kg) en las diferentes regiones ....	207
Figura VII- 29. Valores de la acidez total de la miel (meq/kg) según la época de recogida..	207
Figura VII- 30. Valores de pH de la miel (meq/kg) en las diferentes regiones de Mozambique .....	209
Figura VII- 31. Valores de relación acidez lactónica / acidez libre (meq/kg) en las diferentes regiones de Mozambique. ....	210
Figura VII- 32. Valores de la relación ALCT_AL de la miel (meq/kg) según la época de recogida .....	210
Figura VII- 33. Valores hidroximetilfurfural de la miel (mg/kg) en las diferentes regiones.	212
Figura VII- 34. Valores de HMF de la miel (meq/kg) según la época de recogida .....	212
Figura VII- 35. Valores de Índice de diastasa de la miel en (°Gothe) en las diferentes regiones de Mozambique .....	213
Figura VII- 36. Valores Índice de diastasa de la miel en (°Gothe) según época de recogida.	213
Figura VII- 37. Valores Luminosidad de la miel en las diferentes regiones.....	214
Figura VII- 38. Valores de a* de la miel en las según épocas de recogida.....	215
Figura VII- 39. Valores de b* en las diferentes regiones de Mozambique .....	215
Figura VII- 40. Valores de Cab* en las diferentes regiones de Mozambique .....	217
Figura VII- 41. Valores H*ab de las diferentes regiones. ....	217
Figura VII- 42. Gráfico de los valores S*ab en las diferentes regiones de Mozambique .....	218

Tabla VII- 1. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de aerobios mesófilos de la miel de las diferentes regiones. ....	186
Tabla VII- 2. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para mohos y levaduras de la miel de las diferentes regiones.....	188
Tabla VII- 3. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para humedad de la miel de las diferentes regiones. ....	190
Tabla VII- 4. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para actividad de agua ( $a_w$ ) de la miel de las diferentes regiones. ....	192
Tabla VII- 5. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de los azúcares totales de la miel de las diferentes regiones. ....	193
Tabla VII- 6. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación del contenido de fructosa, glucosa y sacarosa de la miel, de las diferentes regiones. ....	197
Tabla VII- 7. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de la relación fructosa /glucosa y fructosa/sólidos totales de la miel, de las diferentes regiones. ....	198
Tabla VII- 8. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de Conductividad eléctrica de la miel de las diferentes regiones. ....	199
Tabla VII- 9. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de Cenizas de la miel de las diferentes regiones. ....	201
Tabla VII- 10. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de Sólidos insolubles y Sólidos totales de la miel de las diferentes regiones.....	203
Tabla VII- 11. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de la acidez libre de la miel de las diferentes regiones. ....	204
Tabla VII- 12. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de la acidez láctica de la miel de las diferentes regiones.....	206
Tabla VII- 13. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de la acidez total de la miel de las diferentes regiones. ....	208
Tabla VII- 14. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de pH de la miel de las diferentes regiones.....	209
Tabla VII- 15. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de la relación Acidez láctica / Acidez libre de la miel de las diferentes regiones.....	211
Tabla VII- 16. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación del contenido de HMF (mg/kg) e Índice de distasa ( $^{\circ}$ G), de la miel de las diferentes regiones. ....	214
Tabla VII- 17. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de los valores de la luminosidad y los parámetros $a^*$ y $b^*$ de la miel, para el Iluminante D65, $10^{\circ}$ , de la miel de las diferentes regiones. ....	216
Tabla VII- 18. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de los valores de Cromo, el Tono y la Saturación del color, para el iluminante D65, $10^{\circ}$ , de la miel de las diferentes regiones. ....	218

**RESUMEN**

Mozambique es un país en vías de desarrollo, localizado en la costa oriental de África, con un gran potencial para la producción de miel debido a su climatología, orografía y vegetación. El gran interés mostrado por la Asociación de Apicultores para normalizar la miel y responder a los requerimientos del sector apícola de Mozambique, nos ha llevado a realizar un estudio con el objetivo de caracterizar y clasificar las mieles de Mozambique. Se han recogido datos sobre las condiciones de producción, obtención y comercialización de la miel y se han analizado las muestras para determinar las características microbiológicas y físico-químicas de este alimento.

Para ello se tomaron 189 muestras de miel de cuatro regiones de Mozambique (Manica, Sofala, Inhambane y Maputo) correspondientes a las áreas geográficas de procedencia, que son las regiones más importantes en producción de miel. Las muestras se recogieron directamente de las explotaciones apícolas, procurando que no hubiera transcurrido más de tres meses desde la fecha de recolección. Además de cumplimentarse un cuestionario al momento.

Se han evaluado los principales grupos microbianos presentes (aerobios mesófilos, enterobacteriaceae, clostridium sulfito-reductores y mohos y levaduras).

Se determinaron diferentes parámetros físico-químicos de estabilidad (pH, actividad de agua, conductividad eléctrica, tipos de acidez y color), con el fin de obtener información sobre la estabilidad del producto y de los posibles riesgos sanitarios para la salud del consumidor.

También se han estudiado los principales componentes químicos: humedad, azúcares (fructosa, glucosa, sacarosa), cenizas, sólidos insolubles y sólidos totales. La frescura de la miel se valoró determinando la actividad de la diastasa y el hidroximetilfurfural.

Se aplicó el análisis de componentes principales a los resultados físico químicos obtenidos para así reducir el número de dimensiones de los datos. Se pone de manifiesto que al menos cinco componentes principales son responsables del 74,34% de la variabilidad de los datos, y teniendo cada uno de ellos, varios factores de peso significativo.

Al aplicar el análisis de conglomerados sobre los datos obtenidos se han podido diferenciar significativamente por la composición y calidad cuatro categorías de miel.

**ABSTRACT**

Mozambique is a developing country situated in south-eastern of Africa, where honey collection from the wild and beekeeping are very common practices all over the country. The importance of apiculture in Mozambique based on its particular climatology; orography and vegetation are continuously increasing. The needs from the beekeepers association and the Standardization entities in order to normalize this product and avoiding the fraudulent sales of honeys was the propose of this study for characterization and classification of Mozambican honeys.

The samples were picked up directly from the apiary, over two consecutive harvest seasons, procuring that no more than three months had passed from the moment of the extraction, and filling an inquiry related of elaboration and processing

The characterization of 189 samples from 4 provinces of Mozambique (Manica, Sofala Inhambane and Maputo) was carried out on the basis of their microbiological (aerobius mesófilos, *enterobacteriaceae*, clostridium, fungi and yeasts), physical (pH, water activity, electrical conductivity, colour, insoluble's solids, free acidity, laconic and total acidity) in order to get information related the stability of the product and some possible sanitary risks for the consumer health. The chemical components have also been analysed (moisture, fructose, glucose, sucrose, ash, hydroxymethylfurfural and diastase activity) for maturity and freshness evaluation.

A principal component analysis was performed on the physic-chemical data in order to determine statistically allowed us to obtain 74, 34% on five principal components and also the formation of four clusters. We could classify a 4 categories of honey based on their composition and quality.









# **I. INTRODUCCIÓN**







## I. INTRODUCCIÓN

La miel es la "sustancia dulce elaborada por *Apis mellifera* o por diferentes sub-especies, a partir del néctar de las flores y de otras secreciones extraflorales, que las abejas liban, transportan, transforman, combinan con otras sustancias, deshidratan, concentran y almacenan en panales" (Anónimo, 2001a).

También se define la miel como la sustancia natural dulce producida por la abeja *Apis mellifera* a partir del néctar de plantas o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores presentes en las partes vivas de plantas, que las abejas recolectan, transforman, combinándolas con sustancias específicas propias, depositan, deshidratan, almacenan y dejan en colmenas para que madure (Anónimo, 2003).

A lo largo de la historia existen numerosas referencias que dejan constancia de la gran importancia y de los numerosos usos que se han dado a la miel, convirtiéndose en ocasiones en un producto indispensable y de primera necesidad. En algunos lugares la miel se usa para hacer bebidas alcohólicas como vino de miel y aguamiel (cultura maya). En algunas partes de África, la cerveza de miel es una bebida tradicional y popular (Gentry, 1982).

Además, le han sido atribuidas numerosas propiedades medicinales que han sido comprobadas por diferentes trabajos científicos (Sato y Miyata, 2000), algunos de los cuales destacan la miel por su poder energético, contra la anemia, dinamizante, laxante, hepatoprotector, antiséptico, antibacteriano y cicatrizante (Humbel, 2004).

Según Adcock (1962), Allen et al. (1991); Molan (1992a); Molan (1992b); Willix et al. (1992); Al Somal et al. (1994); Wahdan (1998); Taormina et al. (2001) y Iurlina y Fritz (2005) los responsables de la actividad antibacteriana son los factores físicos, como su alta osmolaridad, factores químicos relacionados con la presencia de sustancias inibidoras, hidrógeno, y sustancias volátiles, como flavonoides, antioxidantes y ácidos fenólicos (Molan y Russel, 1988; Weston et al., 1999; Noa y Mas, 1998; Tuck y Hayball, 2002; Nagai et al., 2006).



García et al. (2001) refieren a la presencia de agentes antimicrobianos en las mieles de *Labiatae* y romero, que han actuado inhibiendo el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* (Al-Waili, 2005).

Al-Waili (2005), estudió los efectos de la mezcla de miel, la cera y aceite de oliva en el crecimiento de *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus* aislados de muestras humana, y observó que la mezcla de miel y la miel sola pueden inhibir el crecimiento de *S. aureus* o *C. albicans*.

La apicultura en Mozambique es una actividad con una larga tradición y tiene una importancia significativa para las zonas rurales, constituyendo un proyecto provechoso basado en un medio natural, sin ser destructivo para el medio ambiente.

Alcobia (1995) indica que en Mozambique existe una gran variedad de flora melífera y polinífera que permite ser aprovechada a lo largo del año mediante la trashumancia. También hay que tener en cuenta el valor ecológico de las abejas en su misión de polinización de las especies vegetales y de diferentes cultivos (agrícolas, frutales, florestales), siendo así responsables de un elevado beneficio social que puede ser valorado en millones de meticais (unidad monetaria de Mozambique).

La producción mundial de miel es del orden de las 1.309.656 de Tm. El principal continente productor es Asia, seguido de Europa y en tercer lugar, América. China es el mayor productor (256.000 Tm) seguido de Estados Unidos y Argentina con cerca de 100.000 Tm y 90.000 Tm, respectivamente. La producción total de África es de 143.020 Tm, correspondiendo a Mozambique 390 Tm (FAOSTAT, 2004).

Por otro lado, según datos del informe de (Jooste y Smith, 2004) la producción de miel en Mozambique se estima en 3.600 Tm.

La ausencia de datos científicos relativos a las características de la miel de Mozambique, incluso en la literatura de carácter divulgativo y gastronómico, nos ha llevado a plantear una investigación que respondiera al interés manifestado por el sector apícola así como por parte de organismos oficiales implicados en la normalización de este alimento en Mozambique.

Para ello, en el presente estudio se recogen aspectos informativos de las condiciones climatológicas, de la vegetación y orográficos, incluyendo la producción y elaboración de la miel en distintas zonas de Mozambique, todo ello unido a la analítica de muestras y evaluación de resultados conducentes a poder valorar la calidad de este alimento.







## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**



## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. APICULTURA EN MOZAMBIQUE

#### 2.1.1. La abeja melífera

En Mozambique, predomina la abeja *Apis mellifera scutellata*, también llamada Abeja Africana (**Figura 1**). Es originaria del este de África y son más productivas y mucho más agresivas. Son de tamaño pequeño y construyen panales verticales de dos celdas de grosor, poseen un ciclo de desarrollo precoz (18,5 a 19 días) en relación a las europeas (21 días), lo que les da una ventaja en la producción y resistencia al ácaro del género *Varroa*. Aumentan la población y liberan los enjambres reproductivos rápidamente, migran fácilmente cuando la competición para los alimentos o las condiciones ambientales son desfavorables. No ha sido diagnosticado en ningún caso plagas o enfermedades de las abejas.



**Figura 1.** Abeja *Apis mellifera scutellata* (Abeja Africana)



### 2.1.2. La miel

La miel es un producto alimenticio que puede ser fluido, espeso o cristalizado. Es producida por las abejas tanto del néctar de las plantas como de la mielada. Algunos de los componentes, (carbohidratos, agua, trazas de ácidos orgánicos, enzimas, aminoácidos, pigmentos, polen y cera) se deben a la maduración de la miel, algunos son agregados por las abejas y otros son derivados de las plantas (EU, 2002). La miel del mismo origen floral puede variar en su composición debido a variaciones climáticas estacionales o a diferente origen geográfico (Abu-Tarboush et al., 1993; Anklam, 1998). El néctar es una solución acuosa azucarada, segregada a nivel de los órganos glandulares de los vegetales, que pueden ser florales, y extraflorales (Serrano et al., 1994a).

Además de la definición de la miel dada por el Codex Alimentarius (Anónimo, 2001a) hay definiciones adicionales en las normas regulatorias de varios países y en los Estados Unidos (Molan, 1996).

La composición de las mieles varía ampliamente y depende predominantemente de la composición del néctar, las condiciones climáticas y origen floral, (European Commission Health & Consumer Protection Directorate- General, 2002) aunque puede ser descrita de la siguiente manera:

**Carbohidratos** (73–83%), que constituyen el principal componente de la miel. Los sacáridos siempre presentes en la miel son: Fructosa (30,9-44,3%), Glucosa (22,9–40,8%), Sacarosa (0,8-10%), Maltosa (0,5-2,8%), Isomaltosa (0,5-1,5%), Turanosa (0,5-1,5%), nigerosa (0,2-1,0%).

**Agua:** El contenido normal está entre (14,5 y 18,5%). Valores mas altos pueden inducir a fermentación, mientras que si la humedad de la miel es inferior al (17%), no puede haber ninguna fermentación. Sin embargo, algunas mieles uniflorales pueden contener normalmente contenidos de agua mayores (castaño 17-19%, brezo hasta 21%).

**Otros constituyentes** minoritarios (menos del 1,5% sobre la materia seca)

Ácidos orgánicos (0,6%): ácidos glucónico (principal), acético, butírico, cítrico, fórmico (también presente en el veneno de las abejas), láctico, málico, piroglutámico y succínico.

Estos dan a la miel un pH ácido, entre 3,4 y 6,1. Las mieles de mielada tienen un pH más alto que las mieles de flores.

Compuestos nitrogenados (0,4%): proteínas (0,3%), aminoácidos (0,05-0,1%) (Principalmente prolina), enzimas (amilasa, glucooxidasa, etc.).

Minerales (0,1%): mayoritariamente potasio (0,05%), fósforo (0,005%), calcio (0,0048%), sodio (0,0029%) y magnesio (0,002%).

Según Benedetti y Pieralli (1990), la composición de la miel entre los países productores, en términos generales el contenido es: glucosa (aprox. del 30-35%), fructosa (aprox. del 35-45%), sacarosa (1-3%), contenido de humedad de (15-21%), ceniza (0,09-0,33) y el pH hasta (3,2 al 4,5%), prótidos (0,04 al 2%), sales minerales (0,1 al 0,2%).

Las mieles son, en estado fresco, productos viscosos, de sabor a la vez muy azucarado, ácido y más o menos aromático, desprenden un olor característico. El color es variable, según su origen floral que va, desde blanco agua casi transparente a un pardo oscuro-castaño muy pronunciado, casi negro.

### 2.1.3. Clasificación de la miel.

La clasificación de las mieles según Anónimo (2003) es:

a. Según su **origen**:

- 1- Miel de flores o miel de néctar: es la miel que procede del néctar de las plantas.
- 2- Miel de mielada: es la miel que procede en su mayor parte de excreciones de insectos chupadores de plantas (hemípteros) presentes en las partes vivas de las plantas.

b. Según su **elaboración** o su presentación:

1- Miel en panal: es la miel depositada por las abejas en los alvéolos operculados de panales, elaborados por las propias abejas o estirados a partir de láminas de cera comerciales por las propias abejas.

2- Miel con trozos de panal o panal cortado en miel: es la miel que contiene uno o más trozos de miel en panal.

3- Miel escurrida: es la miel que se obtiene mediante el escurrido de los panales desoperculados, sin larvas.

4- Miel centrifugada: es la miel que se obtiene mediante la centrifugación de los panales desoperculados, sin larvas.

5- Miel prensada: es la miel obtenida mediante la compresión de los panales, sin larvas, con o sin aplicación de calor moderado, de hasta un máximo de 45 °C.

6- Miel filtrada: es la miel que se obtiene eliminando mediante un proceso de filtración, materia orgánica o inorgánica ajena a la miel de manera tal que se genere una importante eliminación de polen.

7- Miel para uso industrial: es la miel apropiada para usos industriales o para su utilización como ingrediente de otros productos alimenticios que se elaboran ulteriormente, puede; presentar un sabor o un olor extraños, o haber comenzado a fermentar, o haber fermentado, o haberse sobrecalentado.

#### **2.1.4. Zonas geográficas de producción de miel en Mozambique**

Mozambique está situada en la costa sur-oriental de África, entre los paralelos 10°. 27' y a 26°. 52' de latitud sur, entre el meridiano 30°. 12' e 40°. 51' de latitud oeste. El país ocupa una superficie de 799.380 km<sup>2</sup>, de los cuales 786.380 km<sup>2</sup> son de tierra firme y 13.000 km<sup>2</sup> de aguas interiores. La extensión de la frontera terrestre es de 4.330 km, limitando al norte con la República Unida de la Tanzania; a oeste (de norte a sur) con Malawi, Zambia, Zimbabwe, República de África del Sur y Swazilandia; al este está bañado por el Océano Índico. La longitud costera es de 2.515 km, desde la desembocadura del río Rovuma, en el norte, hasta Punta del Ouro, en el sur. La menor amplitud de tierra es de 47,5 km (**Figura 2**).



**Figura 2.** Mapa de Mozambique

Bajo el punto de vista de producción apícola se han señalado las regiones A, B, C y D, que a continuación se describen.

**Región A:** Manica (**Figura 3**) está localizada en el centro de Mozambique con una precipitación media  $> 2000$  mm y se caracteriza por ser una región con vegetación tipo sabana, con árboles y arbustos de un elevado potencial para la producción de miel como (*Guibourtia conjugata*, *Azelia quanzensis*, *Ekebergia capensis*, *Lonchocarpus pacassa*, *Pterocarpus brenanii*, *Combretum zeyre*, *Brachystégia boehmii*, *Brachystegia spiciformis*, *Erythrophleum suaveolens*, *Acacia nigrescencis*, *Pterocarpus angolensis*).

**Region B:** Sofala (**Figura 4**) está localizada en el centro con una precipitación media  $> 2000$  mm, se caracteriza por una flora melífera de especies como (*Diospyros mespiiformis*, *Brachystegia boehmii*, *Paralepistemon shirensis*, *Brachystegia spiciformis*, *Lonchocarpus pacassa*, *Securidaca longipepedunculata*, *Entandophragma caudatum*, *Lantana camara*, *Cholorophora excelsa*, *Kaya nyassica*, *Acacia nigrescencis*, *Combretum zeyre*,

*Lecaniodiscus flaxinifolii*, *Erythropheoum sp*, *Mangifera indica*, *Julberdina globiflora*, *Pterocarpis brenanii*, *Sterculia africana*, *Pteleopsis myrtifolia*, *Acacia robusta*, *Diplorhynchus*, *Dalbergia melanoxylon*, *Millettia stuhlmanii*, *Milicia excelsa*, *Hiteropyx natalensis*, *Plyllanthus sp.*, *Pterocarpus angolensis*),

**Region C:** Inhambane (**Figura 5**) está localizada en el sur de Mozambique con una precipitación média anual de 1000 a 1200mm se caracteriza por ser una región con vegetación tipo sabana, con árboles y arbustos como (*Cocus nucifera*, Linn., *Sclerocaya cafra* Sond., *Guibourtia conjugata*, *Anacardium occidentale*, *Eucalytus S.P.P*, *Ekebergia capensis*, *Andasonia digitata*, *Citrus sinensis L.*, *Trichilia emetica*, *Pirus Communis*, *Brachystegia boemii*).

**Grupo D:** Maputo (**Figura 6**) está en el sur de Mozambique. Se caracteriza por un clima sub-tropical, con precipitación média anual de 600 a 1000 mm y es una región predominada por una vegetación natural, (*Persea Americana*, *Helianthus annus*, *Sclerocaya cafra* Sond., *Anacardium occidentale*, *Eucalyptus S.P.P.*, *Andasonia digitata*, *Citrus sinensis L.*, *Citrum limon L.*, *Trichilia emetica*, *Piris communis*).



**Figura 3.** Region A (Manica)



**Figura 4.** Región B (Sofala)





**Figura 5.** Región C Inhambane



**Figura 6.** Región D (Maputo)

### 2.1.5. Vegetación y climatología.

Las temperaturas en el territorio presentan variaciones regionales, en función de la interferencia de factores como la latitud y continentalidad. Las temperaturas medias anuales se distribuyen del siguiente modo: 18 a 20 ° C., en las regiones montañosas; de 22 a 24 ° C., en las regiones centrales, planicies del norte y centro; zonas de este a oeste, de las provincias del sur; y de 24 a 26° C., todo el este de las regiones norte, centro y el interior de las regiones de sur del país (Anónimo, 1987).

Mozambique tiene 2 estaciones climáticas bien diferenciadas al año. La estación de las lluvias, de octubre hasta abril y la estación seca de mayo hasta setiembre, más señalada en las regiones del centro y norte del país. La precipitación media varía de valores inferiores a 400 mm, hasta valores de 2000 mm.

En términos de agro-climatología, Mozambique está dividido en tres zonas: toda la zona al norte del río Zambeze, donde la disponibilidad de agua para las culturas es en un período bien definido, el de la época de las lluvias, con más del 80% de probabilidades de que las necesidades mínimas del agua sean suficientes para todo el ciclo vegetativo, o sea, solamente 2 de cada 10 años pueden ocurrir problemas del déficit hídrico; la zona centro, entre el sur del río Zambeze y el norte del río Save, con la probabilidad de hasta 60% de las necesidades de las culturas sean satisfechas en agua. Esto significa que el riesgo de ocurrencia de seco sea de 4 años en cada 10; la zona sur, toda la región al sur del río Save, cuyo potencial de precipitación es solo del 30% de la necesidad de las culturas y con un riesgo de que en cada 10 años, siete presenten problemas de sequía.

La cobertura vegetal, desde la floresta alta y baja, matagal, praderas arborizadas y mangales, ocupa una superficie de cerca de 62 millones de hectáreas que corresponden a 78% de la superficie total de Mozambique, las formaciones consideradas con potencial productivo o maderero, cubren una superficie de cerca de 22 millones de hectáreas, que permiten un corte anual de 500.000 m<sup>3</sup>. La restante vegetación, está constituida por sabanas arbóreas, la superficie estimada para la formación de mangales es de cerca de 396.000 hectáreas.



Además de la vegetación natural, están establecidas en el país cerca de 46 mil hectáreas de plantaciones de especies exóticas, principalmente en la provincia de Manica, con el objetivo de servir a la industria de procesamiento de exóticas. También están establecidas plantaciones de eucaliptos (Anónimo, 2001b).

Las especies vegetales están constituidas por 118 especies, representando apenas el 20% de la superficie de las florestas productivas y clasificadas en especies preciosas y especies de 1ª, 2ª, 3ª y 4ª clase, en función de su valor comercial y de su comercialización tanto en el mercado interno como el externo (Anónimo, 2001b). Entre las especies preciosas, están 8 arbóreas protegidas por Ley – Ébano (*Diospyros mespiiformis*), Sândalo (*Spyrostachis africana*), Pau Preto (*Dalbergia melanoxylon*), Pau Rosa (*Swartzia madagascarensis*), Chacate (*Guibourtia conjugata*), Inhamarre (*Ekebergia capensis*), Tule (*Milicia excelsa*) y Mbuti (*Entandophragma caudatum*).

Las florestas productivas, que representan el 20 % de la superficie total de la vegetación natural, se localizan en las provincias del centro, norte del país y norte de la provincia de Tete, donde son explotadas, las maderas de Umbila (*Pterocarpus angolensis*), Chanfuta (*Afzelia quanzensis*), Panga-Panga (*Millettia stuhlmannii*), Missanda (*Erythrophleum suaveolens*), Massassa (*Brachystegia spiciformis*), Pau Preto (*Dalbergia melanoxylon*), Pau Rosa (*Swartzia madagascarensis*) y Umbáua (*Khayanyasica*).

Los sistemas de explotación de miel en Mozambique, dependen principalmente de la vegetación y climatología las cuales están distribuidas en su gran mayoría en las zonas rurales con los pequeños apicultores donde la fuente de alimentación para las abejas es natural. La explotación de la miel, juega un papel importante para el alivio de la pobreza de las poblaciones, en el sector rural mozambiqueño, tanto como alimento como fuente de ingresos financieros para las familias con las ventas de este producto.

#### **2.1.6. Sistemas de explotación apícolas**

Existen a nivel mundial muchas especies diferentes de abejas la mayoría son solitarias, pero algunas son sociales, que viven juntas en colonias manifestando división de labor entre los individuos. Su hábito de visitar flores hace que todas las especies de abejas sean importantes como agentes de la polinización. Todas las especies obtienen el néctar y el polen

de las flores, pero pocas de las especies almacenan el néctar en forma de miel. La especie *Genus apis* es la verdadera abeja melífera (Gentry, 1982).

Las abejas melíferas son buenas indicadores biológicos porque indican el estado de medio ambiente donde viven mostrando alta mortalidad en el caso de intoxicaciones por pesticidas así como residuos de acaricidas y otros contaminantes como metales pesados o radiaciones en productos de la colmena (Porrini, 2004).

Anónimo (2004) refiere como ejemplos de especies de abejas mas conocidas las siguientes: *Apis mellifera mellifera* (abeja real, Alemana); *Apis mellifera ligustica* (abeja Italiana); *Apis mellifera caucasica* (Rusa); *Apis mellifera carnica* (abeja Carnica); *Apis mellifera scutellata* (abeja Africana); abejas africanizadas en Brasil (*Apis mellifera mellifera*; *Apis mellifera ligustica*; *Apis mellifera caucasica* y *Apis mellifera carnica*) con *Apis mellifera scutellata*; Son también reportadas otras especies como *Apis mellifera adami* (Creta); *Apis mellifera andansonii* (Costa oeste de África); *Apis mellifera anatolica* (Turquía hasta Oeste de Iran); *Apis mellifera armenica* (Armenia); *Apis mellifera capensis* (Sur de África del Sur); *Apis mellifera cecropia* (Sur de Grecia); *Apis mellifera cypria* (Mediterráneo central y sudoeste Europa); *Apis mellifera intermissa* (Libia hasta Marruecos); *Apis mellifera jemenetica* (Somalia, Uganda, Sudán); *Apis mellifera litorea* (Costa Este de África); *Apis mellifera major* (Marruecos); *Apis mellifera nubica* (África); *Apis mellifera monticola* (Tanzania); *Apis mellifera remipes* (Región caucasiana); *Apis mellifera sahariensis* (Argelia).

La gran diversidad de las especies las convierte en una especial clave en el medio ecológico, pues contribuyen a mantener la riqueza y estabilidad de los ecosistemas. La práctica de la agricultura intensiva, la urbanización, la industrialización y prácticas apícolas de selección y trashumancia de colmenas, tienen repercusiones directas sobre la estructura genética de esta especie y es esencial proteger su biodiversidad (Garnery, 2004).

Por otro lado la apicultura tiene importancia como medio para superar la pobreza en muchos países en vías de desarrollo, sobre todo para personas de las zonas rurales más pobres (Bradbear, 2004) que suelen, a su vez, ser áreas con difíciles condiciones medioambientales.

Los factores climáticos y la composición del terreno determinan la flora del lugar, afectando la afluencia potencial de néctar. Lluvia, temperatura, y sol afectan la vegetación y determinan la afluencia del néctar (Benedetti y Pieralli, 1990; Pajuelo, 2004).

Martinez (1984) refiere la práctica por parte de apicultores españoles de sistemas de explotación de miel semifijos o trashumantes usando colmenas móviles horizontales (Layens) que perviven por sus ventajas para la trashumancia. El sistema semifijo se caracteriza porque en invierno y primavera se llevan las colmenas a aprovechar el néctar de cítricos y después de su cosecha se trasladan las colmenas en busca de otras fuentes como el eucalipto.

También Gil (1986) señala la práctica de los sistemas fijos y móviles, indicando que el sistema fijo es la colmena antigua en explotaciones en minifundio, de 10 a 12 colonias y algunas alcanzan las 100; es un sistema de bajo rendimiento comparativamente con el móvil pero que sus propietarios mantienen este sistema como en otros países europeos de tecnología bastante adelantada. El sistema móvil está asociado a Lorenzo Lorrain Langstroth en 1851, que inventó una colmena en que todas sus piezas eran móviles producto de una evolución, dentro del sistema fijo y después en el propio móvil.

La colmena es definida como un receptáculo que puede ser elaborado con materiales que se encuentran en el entorno, siendo lo más primitivo y frecuente los troncos huecos de los árboles debidamente recortados (colmenas rústicas), (Crespi, 1987; Jean-Prost, 1987; Biri, 1988; Benedetti y Pieralli, 1990). Desde el origen de la apicultura las colmenas han sufrido una notable evolución paralela a los cambios tecnológicos aplicados a los trabajos apícolas. Cabe considerar colmenas rústicas o panales fijos, formados por una sola pieza; colmenas de panales fijos, formados por varias piezas, que incluyen un alza para almacenar miel de modo suplementario; colmenas de panales móviles, también llamadas movilizadas, actualmente de uso generalizado que pueden ser de tipo horizontal (Layens) y de tipo vertical con alzas (Langstroth), fáciles de manejar y de limpiar.

En Mozambique existen diferentes modelos de colmenas fabricadas con diversos materiales, siendo las más comunes de madera. La mayoría de los apicultores usan:

- **Colmenas tradicionales** que son de la corteza de árboles (**Figura 7**) o de paneles de barro que tienen ventajas por ser fabricados a partir de material local y de bajo costo. Son fijas y las abejas elaboran los panales en sus paredes. No permiten la inspección de los panales.
  
- **Colmenas de transición** que son hechas de troncos de cocoteros (**Figura 8**) y de madera (Kenian Top Bar Hive – KTBH) (**Figura 9**) estas ofrecen muchas más ventajas en relación con la tradicional ya que permiten la inspección y tiene mayor capacidad del espacio para los enjambres. La producción es mayor y el uso de algunas técnicas de manejo atendiendo los costos de una colmena móvil (moderna) son consideradas como la alternativa viable para muchos de los apicultores.
  
- **Colmenas modernas** que son las colmenas móviles Langstroth (vertical) (**Figura 10**), o la colmena móvil (horizontal) (**Figura 11**) basadas en un cuadro de madera donde es fijada una lámina de cera moldeada a partir de la cual las abejas obreras construyen los panales. Cuando se pretende extraer la miel, se llevan los cuadros a la centrífuga o máquina extractora. La miel es extraída y los cuadros se devuelven de nuevo a la colmena.

El uso de colmenas rústicas, de panales fijos con alzas que consiste en acoplar a la colmena rústica, un compartimento superior, donde las abejas construyen panales y almacenan miel y colmenas de panales móviles, no es solamente una práctica de Mozambique, sino también de otros países ( Crespi, 1987; Jean-Prost, 1987; Biri, 1988; Benedetti y Pieralli, 1990).

Bogdanov (2004) considera que los contaminantes de la colmena más importantes son los debidos al medio ambiente y a las propias prácticas apícolas, como la presencia de antibióticos. El uso de compuestos organofosforados para el control de las infestaciones en colmenas por *Varroa spp* puede ser la causa de los problemas de residuos en la miel (Serpe y Castellano, 1993).

Como parte del proceso de monitorización de productos alimenticios con residuos de drogas veterinarias, Castle et al., (2004) desarrollaron métodos para detectar petróleo y residuos nitrobenzénicos en la miel, pues estas sustancias provienen del producto utilizado en la fumigación de las colmenas para el control de las infestaciones por parásitos.





**Figura 7.** Colmena Tradicional de Corteza



**Figura 8.** Colmenas de Transición





**Figura 9.** Colmenas de Transición KTBH



**Figura 10.** Colmenas Móviles Langstroth





**Figura 11.** Colmenas Móviles Horizontales

## **2.1.7. Sistemas productivos y de comercialización**

### **2.1.7.1. Condiciones de obtención de la miel**

La tecnología de la miel abarca todas las operaciones desde la elección del cuadro destinado a acumular la miel, la manera de extracción de los cuadros de la colmena y la miel del panal, hasta la elaboración y el almacenamiento.

Según Sporns (1982) y Piana et al. (1989) el uso del ácido fénico como repelente de las abejas en el momento de la recolección puede comunicar a la miel olores desagradables dada su volatilidad y además puede ser un producto cáustico y tóxico para el hombre, absorbible por contacto a través de la piel. Gyorik et al. (2003) usaron el método HPLC para la detección de residuos de fenol en la miel comercial con éxito.

Los principales útiles que debe poseer un apicultor para protegerse y realizar tareas apícolas con eficiencia son : el ahumador, careta y guantes, rasquetas, cepillo, extractor de miel, hojas de cera, cuchillos desoperculadores, rastrillo, escapes de abejas, recipientes filtradores, jaulitas y alimentadores.

Mutinelli (2004) considera que para conseguir productos libres de cualquier residuo es necesario reforzar las medidas de control, como el recambio de panales cada dos años, la eliminación de las colonias afectadas, quemar los panales afectados, desinfección de las cajas, y que una de las formas de desinfección más eficaces para el material, colmenas, y cuadros es la aplicación de radiaciones gamma que se han demostrado también eficaces contra otros agentes patógenos.

Por otro lado, la producción por parte de los apicultores de productos destinados a usos terapéuticos requiere el estricto respeto de una serie de normas higiénicas y de calidad mayores de las habituales, lo que implica ciertos cambios en las prácticas de manejo normales (Humbel, 2004).

Según Crespi (1987), la extracción es la operación por la cual se vacían de miel las celdas de los panales, en que hay que desopercular los panales y a continuación, disponer los cuadros en el extractor centrífugo, para proceder a la extracción de la miel. No es posible indicar con exactitud la época en que se debe proceder a la recolección de miel, puesto que varía según las regiones.

La recolección y extracción de panales de las alzas debe hacerse cuando estos se hallan repletos de miel, y operculados en más de un 75% de su superficie, lo cual nos revela la existencia de buena cantidad de miel madura (Pérez-Arquillué y Benito, 1985; Biri, 1988; Piana et al., 1989; Benedetti y Pieralli, 1990; Pajuelo, 2004). Los panales son retirados de la colmena para realizar la operación del desoperculado. La extracción de la miel se efectúa por medio de una centrífuga que por rotación permite extraer la miel de los panales sin deteriorarlos. Los extractores más modernos y más indicados para grandes explotaciones son de tipo radial que permiten vaciar al mismo tiempo ambas caras del panal. La miel fluye, se somete a un filtrado y después se decanta y madura. Este proceso tiene por función depurar y decantar la miel y permitir una maduración completa, que dura de unos días a una semana. En las pequeñas explotaciones apícolas los extractores son cilíndricos provistos de un simple engranaje accionado por una manivela en los cuales el panal se vacía por un solo lado, después de algunas vueltas se invierten los panales para permitir la extracción de la miel de la otra cara.



Según Pérez-Arquillué y Benito (1985) la miel no cristaliza ni por debajo de 5°C ni por encima de 25°C. La temperatura óptima de cristalización es de 14°C, por otro lado, mieles almacenadas a una temperatura de 5°C y no sometidas a tratamiento térmico son más aceptables (Gupta et al., 1992).

Singh et al. (1998) y Visquert et al. (2004) consideran que el control de tiempo y de la temperatura a la cual está sometida la miel desde su recolección por el apicultor, hasta las etapas finales de envasado, es de vital importancia para garantizar la calidad de la miel comercializada.

#### **2.1.7.2. Producción de miel**

Oficialmente no existen datos estadísticos sobre la producción de miel en Mozambique, a pesar del gran potencial existente para la producción apícola, en terminos de disponibilidad de recursos agro-ecológicos, cuya capacidad de producción se estima en 3.600.000 kg/año (Jooste y Smith, 2004), pero no se consigue debido a que las explotaciones en su mayoría son pequeñas y además algunos apicultores desconocen las técnicas y procedimientos adecuados.

#### **2.1.7.3. Comercialización**

Actualmente se perfila en el campo comercial de las mieles una tendencia hacia dos tipos de mercado paralelos: por un lado, el destinado a promover un buen alimento, susceptible de manipulaciones y que está disponible como producto de oferta a precios relativamente bajos y por otro un tipo de mercado, destinado a satisfacer a una clientela más exigente, con criterios más rigurosos y garantías para el consumidor en lo que respecta al origen y a la calidad del producto.

La mayoría de la producción de miel consumida en el mercado interno es vendida directamente por el productor, en tiendas de zonas rurales, supermercados, hipermercados y venta ambulante. También es significativo el autoconsumo como alimento y algunos productores la usan como pago en intercambio de servicios.

También es importante referir el papel de algunas Organizaciones No Gubernamentales (ONGs) y de las cooperativas que tienen tiendas para promover la venta de miel de sus

asociados; (por ejemplo, la cooperativa de Maputo tiene una tienda que vende 75 a 100 kgs de miel mensualmente para el consumo local).

Todavía hay pocos comerciantes implicados en la comercialización de la miel, debido a la baja calidad, a la precariedad de los envases, a la necesidad de mejorar embalajes y la fragilidad de los contenedores de venta a granel.

### **2.1.8. Otros Productos Apícolas**

#### **2.1.8.1. La cera**

Las ceras de abejas son lípidos resultantes de la esterificación de diversos alcoholes por los ácidos grasos correspondientes, con una gran estabilidad química. Esta compuesta por ésteres (72%), ácidos (13,5%), hidrocarburos (10,5%), alcoholes libres (1%), lactonas (0,6%), pigmentos (0,4%), e impurezas minerales (2%) (Anónimo 1975; Benedetti y Pieralli, 1990).

#### **2.1.8.2. El veneno**

El veneno es un líquido de olor agradable, debilmente ácido. Es una sustancia compleja en cuya composición predominan las proteínas. Se encuentran en el veneno, entre otras sustancias, histamina (0,1 al 1%), melitina, que representa un (70%) de las proteínas del veneno y es responsable de la mayor parte de las propiedades farmacológicas del veneno, fosfolipasa A, hialuronidasa, ácidos, sustancias olorosas y apamina que es un peptido básico con gran acción sobre el sistema nervioso central (Anónimo, 1975; Benedetti y Pieralli, 1990).

El veneno de abeja ha sido objeto de un número considerable de investigaciones clínicas. Se ha estudiado por una parte su composición química y acción fisiológica sobre el hombre y los animales y por otra su valor terapéutico, sobre todo en el tratamiento de diferentes formas reumáticas.

#### **2.1.8.3. Jalea real**

La composición global media de la jalea real es: agua (70%) y el (30%) está compuesta por materia seca, prótidos (50%), lípidos (16%), glúcidos (25%), cenizas (2%), diversos (7%).

La parte protéica de la jalea real incluye, no solamente proteínas (globulina y albúmina) sino también aminoácidos libres en gran proporción (Anónimo 1975; Benedetti y Pieralli, 1990).

#### **2.1.8.4. Polen**

El polen es recolectado por las abejas de las flores al mismo tiempo que el néctar. Se aglomera en forma de pelotas que trasladan a la colmena sujeta a sus patas. La composición del polen es variable según las especies vegetales de las que proviene: agua (7 al 15%), glúcidos (25 al 48%), proteínas (11 al 28%), lípidos (1 al 14%), Sales minerales (1 al 5%) y diversos (20 al 30%) (Anónimo, 1975; Benedetti y Pieralli, 1990).

Según Benedetti y Pieralli (1990) hay dos tipos de polen, el que conservan las abejas en los panales que es enriquecido con secreciones, principios biológicos y conservantes que lo convierten en un producto de altísimo valor nutritivo y el polen en forma de granos que se obtiene con las trampas a la entrada de la colmena y no está modificado por las abejas, siendo un producto notable.

#### **2.1.8.5. Propóleos**

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

Se han encontrado 18 componentes de los propóleos, entre los principales tenemos flavonoides, flavonas, flavenoles, flavinas, un terpeno y aldehído aromático: la isovanillina (Anónimo, 1975; Benedetti y Pieralli, 1990)

#### **2.1.8.6. Hidromiel**

El hidromiel es el resultado de la fermentación alcohólica de una mezcla de agua y miel y se considera que es la más antigua de las bebidas fermentadas.

El hidromiel se fabrica principalmente por los apicultores para el consumo propio y técnicamente es posible obtener productos de 11 a 17 grados alcohólicos, secos, semisecos, espumosos e incluso champanizados.

## 2.2. PARÁMETROS DE CALIDAD

La miel es esencialmente una solución acuosa concentrada de azúcar invertido, que contiene además una mezcla muy compleja de otros hidratos de carbono, diversas enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, sustancias aromáticas, pigmentos, ceras, granos de polen, etc., (Belitz y Grosch, 1997).

Las principales características que definen una miel son: el color, el aroma, el *flavour*, grado de cristalización, cuerpo y composición química (White, 1975; Francis y Gontier, 1983). La composición dependerá principalmente de dos factores: el néctar de origen y los factores externos como son las condiciones climáticas, los métodos de extracción, el tiempo y condiciones de almacenamiento, así como las características y tipo de suelo (Crane, 1975; Haydée, 1989).

Por otro lado el consumidor debe adquirir una miel plena de cualidades organolépticas, exenta de alteraciones físico-químicas o bioquímicas, que hagan suponer una desviación de los procesos normales de extracción, envasado y almacenamiento del producto (González y Lorenzo, 2002).

Los primeros estudios sobre las mieles Españolas de La Alcarria se llevaron a cabo por Rivera (1964). Sanz y Triguero (1970) hicieron un estudio de las mieles procedentes de diferentes zonas de producción de la Península Ibérica y Baleares, determinando la composición química y espectro polínico. Ruiz y Rodríguez (1973), estudiaron las bacterias productoras de ácido glucónico y miel procedentes de apiarios de Madrid.

Serra et al. (1987), investigaron la composición, propiedades físico-químicas y espectro polínico de 22 mieles de naranjo (*Citrus sp.*), 17 de romero (*Rosmarinus officinalis*), 28 de espliego (*Lavandula latifolia*) y 16 de bosque (*Quercus sp.*).

Matero et al. (1988) aplicaron la cromatografía de gases con columnas capilares al análisis de hidratos de carbono en mieles monoflorales españolas. Juan et al. (1992), analizaron la rotación específica y el espectro glucídico de mieles de Zaragoza, observando que todas las muestras eran ópticamente levóginas y la existencia de diferencias significativas en el contenido en sacarosa entre las mieles de romero y milflores.

Las propiedades físico-químicas, composición y polen de las mieles de brezo (*Calluna vulgaris*) producidas en España, fueron estudiadas por Serra y Granados (1993).

En general la miel producida en varios países ha sido objeto de estudio y numerosas publicaciones confirman la posibilidad de caracterización de miel por la determinación de parámetros fisicoquímicos seleccionados (Gupta et al., 1992; Thrasyvoulou y Manikis, 1995; Pérez-Arquillué et al., 1995; Singh y Kuar Bath, 1997; Esti et al., 1997; D'Aray et al., 1997; Mateo y Bosch- Reig, 1998; Golob y Plestejank, 1999; Martos et al., 2000; Anklam y Radovic, 2001; Cordella et al., 2003; Terrab et al., 2003a, 2003b; Iglesias et al., 2004; De Rodriguez et al., 2004; Sorria et al., 2004; Rashed y Solton, 2004; Devillers et al., 2004; Downey et al., 2005; Hernández et al., 2005; Corbella y Cozzolino, 2006; Ouchemoukh et al., 2006; Ahmed et al., 2007).

Los requisitos que debe reunir la miel, de acuerdo con (Anónimo, 2001a y Anónimo, 2003) son:

- **CARACTERISTICAS SENSORIALES**
  - Color será variable desde casi incolora hasta pardo oscuro, pero siendo uniforme en todo el volumen del envase que la contenga.
  - Sabor y aroma, deberán ser característicos y estar libre de sabores y aromas extraños.
  - Consistencia, podrá ser fluida, viscosa o cristalizada total o parcialmente.
- **CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS**
  - Madurez
    - a) Azúcares reductores (calculados como azúcar invertido)
      - Miel de flores: mínimo 65%.
      - Miel de mielada y su mezcla con miel de flores: mínimo 60%.
    - b) Humedad: máximo 20%.
    - c) Sacarosa aparente:
      - Miel de flores: máximo 5%.
      - Miel de mielada y sus mezclas: máximo 10%.
  - Limpieza
    - a) Sólidos insolubles en agua: máximo 0,1%, excepto en miel prensada que se tolera hasta el 0,5%.
    - b) Minerales (cenizas): máximo 0,6%. En miel de mielada y sus mezclas con mieles de flores se tolera hasta 1%.

- Deterioro

a) Fermentación: La miel no deberá tener indicios de fermentación ni será efervescente. Acidez libre máximo 50 miliequivalentes por kilogramo.

b) Grado de frescura: determinado después del tratamiento.

Actividad diastásica: Como mínimo el 8 de la escala de Gothe. Las mieles con bajo contenido enzimático deberán tener como mínimo una actividad diastásica correspondiente al 3 de la escala de Gothe, siempre que el contenido de hidroximetilfurfural no exceda a 15 mg/kg.

El contenido de Hidroximetilfurfural: máximo 60 mg/kg.

Las normas internacionales de la miel (Bogdanov et al., 1999; Anónimo, 2001a) permiten una denominación específica del origen botánico o vegetal (mieles uniflorales) pero no especifica las características de los distintos tipos de mieles. De hecho la necesidad de desarrollo de métodos analíticos armonizados para verificar el cumplimiento de las especificaciones de calidad de los diferentes tipos de mieles.

### 2.2.1. ECOLOGÍA MICROBIANA

La miel es un alimento de humedad intermedia, presenta una flora que se adapta a las condiciones poco favorables para el crecimiento en este producto debido a un pH ácido, humedad y actividad de agua ( $a_w$ ) bajas, una elevada viscosidad, concentración en azúcares y presión osmótica altas, por lo que la hacen un sustrato poco apto para el desarrollo microbiano, aunque la supervivencia en ella es posible.

La miel, tiene una flora microbiana original que le es propia, introducida por las abejas, como esporas de diversas especies de bacilos, mohos, levaduras banales u osmófilas (Pérez-Arquillué y Benito, 1985; Madrid y Madrid, 1990; Bartoli, 1994; Madrid et al, 1994). Además de la microflora original otros microorganismo pueden incorporarse al alimento dependiendo de las condiciones de obtención en la que influiría el propio hombre, las manipulaciones, los locales, los aparatos, los recipientes, los insectos predadores, roedores, animales de compañía los cuales pueden aportar una contaminación secundaria a tenerse en cuenta por la presencia de gérmenes patógenos como *Salmonella*.

Entre los gérmenes patógenos para la abeja, que pueden pasar a la miel, se encuentran *Bacillus larvae*, *Bacillus alvei*, *Aspergillus flavus*, *Ascospheara apis*, *Ascospheara alvei* (Pérez-Arquillué y Benito, 1985) *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringes* o *C. botulinum*, (Snowdon y Cliver, 1996). Las levaduras osmófilas (capaces de crecer a elevadas concentraciones de azúcar), se han hallado en el suelo del colmenar, procedentes de la cera, néctar y abejas muertas.

Según Estupiñán et al. (1998) la miel es un alimento muy seguro respecto a los peligros y riesgos sanitarios comunes que rodean a los alimentos tradicionales artesanales, pero es susceptible de alterarse merced a los posibles cambios ocurridos cuando han existido anomalías durante el procesado, envasado o conservación. Los principales grupos de bacterias en la miel que madura son especies de *Gluconobacter* y *Lactobacillus*, que desaparecen de la miel cuando el contenido de agua desciende al 18% aproximadamente (Ruiz Argueso y Rodríguez Navarro, 1975).

Se han detectado microorganismos peligrosos para la salud del hombre como el *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo, *Bacillus cereus*, (Consentino et al., 1994) o incluso *Clostridium botulinum* tipo G en mieles italianas (Censi, 1990), aunque las esporas encontradas en este caso no causarían enfermedad al hombre salvo en circunstancias particulares. Rall et al. (2003) han encontrado esporas de *Clostridium botulinum* en mieles brasileñas.

En la miel, *Clostridium botulinum* ha sido involucrado en casos de botulismo infantil en los EE UU (Anon et al., 1979) y en Canadá (Dodds, 1993). Las esporas de este microorganismo han sido aisladas frecuentemente en la miel en los EE UU y en Sicilia (Criseo et al., 1993). Solomon y Lilly (2001) en los EE UU encontraron esporas de *Clostridium botulinum* en un 13% de muestras de miel, lo que origino que FDA y CDC recomendara que niños menores de un año no pueden consumir este alimento. Nevas et al. (2002) refieren una prevalencia de *Clostridium botulinum* tipos A y B de 7% en 114 muestras de mieles del país y 16% en 76 muestras de miel importada. Nakano et al. (1992) detectaron *Clostridium botulinum* tipo A y C en un 3,6% de un total de 55 muestras de azúcares para la apicultura que podría ser una fuente de contaminación.

Así, se ha identificado a la miel como posible fuente de contaminación en casos de botulismo infantil (Arnon, 1981). Se ha descubierto que esporas de *Clostridium botulinum* pueden germinar y crecer en abejas muertas coinfectadas por *Bacillus alvei* bajo condiciones anaeróbicas (Nakano et al., 1994). El botulismo infantil ha sido revisado por Midura (1996). Por otro lado (Centorbi et al., 1999; Solomon y Lilly, 2001) refieren al polvo como posible fuente de las esporas de *Clostridium botulinum* A y B en la miel las cuales se han identificado como el factor riesgo del botulismo infantil.

La microflora de importancia comercial son las levaduras osmófilas, que pueden causar la fermentación de la miel si la  $a_w$  es suficientemente elevada, y las esporas de las bacterias que son patógenas para las abejas o toxigénicas para las personas (ICMSF, 2001). En la miel no tratada ha sido aislada una gama amplia de levaduras. *Zygosaccharomyces spp.* Son frecuentes, especialmente las especies osmófilas, *Z. rouxii* (Jermini et al., 1987), que probablemente son la causa más frecuente de la alteración de la miel (Pitt y Hocking, 1985). Otra especie es *Z. bisporus* (Hocking, 1988).

El crecimiento de mohos y levaduras en la miel es de gran importancia por las grandes pérdidas económicas que produce y por ser la causa de alteración más frecuente durante el almacenamiento (Jiménez et al., 1994; Snowdon y Cliver, 1996). Los mohos más comunes pertenecen al género *Penicilium* y *Mucor*. Las levaduras son fundamentalmente osmófilas, pertenecientes al género *Saccharomyces*.

El bajo desarrollo microbiano en la miel también es debido a la presencia de componentes antimicrobianos derivados de su actividad enzimática, como el peróxido de hidrógeno producido por las catalasas y elementos termoresistentes con actividad antimicrobiana (Lavie, 1960).

Las propiedades antimicrobianas de la miel se conocen desde tiempos de Aristóteles (350 a.C.). En un principio se creyó que eran debidas a su alta osmolaridad, pero se ha comprobado que persisten tras la dilución de la miel (Russel et al., 1990). Dold et al. (1937) descubrieron la presencia de una sustancia antibacteriana, la inhibina, que era sensible al calor y a la luz. Posteriormente, White et al. (1962) y White y Subers (1963), identificaron esta inhibina como peróxido de hidrógeno, formado por la acción de la glucosidasa:





Otros autores han sugerido la existencia de otros componentes antibacterianos, como Gonnet y Lavie (1960), que obtuvieron extractos antibacterianos de miel estables a la luz y al calor, a diferencia de la inhibina. Asimismo, Lavie (1963), observó que algunas sustancias antibacterianas extraídas con éter eran volátiles a 95° C.

Molan y Russell (1989) encontraron que las mieles con un alto contenido en sustancias no parafinadas procedían específicamente de algunas especies florales, lo que indicaba que estas sustancias se originaban preferentemente en las flores más que en las abejas. También es posible que el origen de algunas sustancias antibacterianas sean los propóleos (Russell et al., 1990). Según Lavie (1960), estos propóleos tienen un alto poder antimicrobiano y son solubles en alcohol y éter. Los componentes activos de estas sustancias ya han sido aislados por Ghisalbert (1979): galangina, pinocembrin, ácido cafeico y ácido ferúlico, entre otros. Lavie (1960), encontró componentes antibacterianos en algunos tipos de polen. Y también Rusell et al. (1990), hallaron que el polen presente en la miel puede ser precursor de los ácidos aromáticos antibacterianos.

## **2.2.2. PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE CALIDAD**

### **2.2.2.1. pH**

El pH es un parámetro de gran importancia a evaluar durante la obtención y almacenamiento de los alimentos por su influencia sobre el desarrollo de microorganismos y enzimas. Afecta además, a propiedades físicas del producto como la textura, estabilidad y resistencia.

Señala la acidez actual de la miel, lo que contribuye a dar estabilidad este alimento frente a ataques microbianos (Sancho et al., 1991a). Se halla muy condicionado por el contenido en sales minerales, en especial de potasio, sodio y calcio (Crane, 1975) y en mieles de mielada puede aumentar su valor debido al efecto regulador de las sales tampones que contienen (Sanz y Triguero, 1970; Anónimo, 1974; Louveaux, 1985).

Según Adams y Moss (1997) la acidez o la alcalinidad de un medio tienen una gran influencia en la estabilidad de macromoléculas tales como los enzimas, por lo que no resulta

sorprendente que tanto el crecimiento como el metabolismo de los microorganismos estén influidos por el pH.

El pH de la miel oscila entre 3,4 y 6,1 con una media de 3,9 (Louveaux, 1985; Simal y Huidobro, 1984; Belitz y Grosch, 1997). Esta variación depende de la procedencia botánica, siendo generalmente inferior o igual a 4 para mieles de tipo floral y superior a este valor para las mieles de mielada (Frias y Hardisson, 1992).

En un estudio realizado en mieles italianas por Cherchi et al. (1994a) observaron que el pH disminuía ligeramente con el tiempo, aunque, según Gonnet (1965), Krauze y Krauze (1991) y Jiménez et al. (1994), se puede considerar un parámetro muy estable durante el almacenamiento. Bogdanov et al. (1997) refieren el uso del pH-metro sobre una solución de miel en agua destilada al 20 % (w/v) para determinación del pH.

#### **2.2.2.2. Actividad de agua ( $a_w$ )**

La actividad de agua ( $a_w$ ) permite dar una idea más exacta de la disponibilidad potencial del agua en el alimento por los microorganismos, que la expresión del contenido total de humedad del producto. Se define como la relación que existe entre la presión parcial de vapor del agua en el alimento y la presión de vapor de saturación del agua pura a la misma temperatura (Belitz y Grosch, 1997).

$$a_w = P/P_0$$

P: presión parcial del vapor de agua del alimento.

$P_0$ : presión parcial del vapor de agua pura.

La actividad de agua de un alimento es un importante parámetro físico de utilidad para predecir su estado y estabilidad relativa con respecto a sus propiedades físicas, velocidad de las reacciones de alteración, actividad enzimática, así como el crecimiento y desarrollo de los microorganismos (Labuza, 1980; Adams y Moss, 1997).

Adams y Moss (1997) indican que los alimentos de humedad intermedia, IMFs (Intermediun moisture foods), tienen baja posibilidad de alteración microbiana pero a veces puede ocurrir como consecuencia de almacenamiento incorrecto en un ambiente de humedad

relativa elevada. Por otro lado *S. aureus* que puede crecer por debajo de una  $a_w$  de 0,83 no es capaz de producir toxina y con frecuencia es inhibido eficazmente por la combinación de la  $a_w$  con otras barreras antimicrobianas.

La miel se enmarca dentro de los alimentos de humedad intermedia, técnicamente muy seguros respecto a los peligros sanitarios habituales que rodean a los alimentos tradicionales artesanales, pero susceptibles de alterarse merced a los posibles cambios ocurridos cuando han existido anomalías de envasado o conservación (Millán et al., 1995).

Alcalá (1977), Lázaro (1977), Mora (1977) y Estupiñan et al. (1995), aportan datos sobre la  $a_w$  de diferentes muestras de miel, relacionándola con el crecimiento de microorganismos osmotolerantes, propiedades de sorción de humedad y retención de sustancias volátiles. Pero su influencia sobre el crecimiento microbiano se halla condicionada a su vez, por la presencia y actuación de otros factores como el pH, la temperatura, la concentración de oxígeno y dióxido de carbono, así como la presencia de sustancias inhibidoras (Adams y Moss, 1997).

Según Alcalá y Gómez (1990), Belitz y Grosch (1997), Mossel et al. (2003) la actividad de agua de la miel oscila entre 0,490 y 0,650 lo que la convierte en un alimento seguro frente a la actividad de numerosos microorganismos. En el caso de las mieles cristalizadas, el gradiente de concentración puede generar actividades de agua diferentes, permitiendo el crecimiento local de levaduras osmófilas (Martin, 1958; Rüegg y Blanc, 1981).

Leveau y Bouix (1979) refieren el crecimiento de una cepa de *Z. bailii* aislada en la miel en  $a_w$  0,65. Por otro lado según (Esteban Quilez y Marcos- Barrados, 1976) la  $a_w$  mínima para el crecimiento de un grupo de levaduras osmotolerantes inoculadas en miel fue superior a 0,68; en cambio (Zamora y Cherife, 2005) encontraron en mieles naturales como límites para el crecimiento de levaduras osmotolerantes una  $a_w = 0,61/0,62$ .

Los procedimientos tradicionales para la determinación de la actividad de agua mediante equilibrio con disoluciones patrón son muy exactos pero resultan engorrosos, lentos y no permiten obtener resultados en tiempo real. Por otro lado, los métodos instrumentales exigen una inversión económica importante y por todo ello, se ha recurrido en ocasiones el cálculo indirecto a partir de otros componentes. Van Den Berg (1986), indicó que algunos de los valores que se determinan usualmente de forma experimental, podían ser obtenidos a través

de cálculos indirectos con al menos el mismo grado de exactitud. Así pues, la actividad de agua se puede predecir multiplicando las  $a_w$  parciales de los diferentes solutos disueltos o a partir de fórmulas de regresión, partiendo de datos analíticos de otros componentes.

Para el cálculo de la actividad de agua en función de la concentración de cada uno de sus solutos, se ha utilizado con frecuencia la ecuación de Norrish (1966) complementada con la ecuación de Ross (1975), recomendada para alimentos de humedad intermedia (Chirife y Fontan, 1980). Sin embargo, las dificultades analíticas que comportan cada uno de los factores las hacen si no prohibitivas, muy poco prácticas de emplear.

Menos problemática lleva la aplicación de modelos estadísticos de regresión diseñados con variables fáciles de medir en el laboratorio, que aunque son muy restrictivos en su aplicación genérica, resultan efectivos en casos concretos y puntuales (Millán et al., 1995).

Lázaro (1974), señaló la existencia de una relación positiva entre la actividad de agua y la humedad de la miel, confirmado posteriormente por Alcalá (1977). En base a este hecho, se han elaborado varias ecuaciones de predicción de la actividad de agua de la miel a partir del contenido en humedad, como la de Alcalá y Gómez (1990) en mieles comerciales, Millán et al. (1995) en mieles de Gran Canaria, y Sanjuán et al. (1997) en mieles de La Palma. Gómez et al. (1990), la calcularon en función de la humedad y la composición en diversos azúcares (Glucosa, fructosa y sacarosa). Chirife et al. (2005) refieren a la necesidad de conocer la actividad de agua para predecir el cambio de la humedad en ambiente, una vez la  $a_w$  sea el motor de la transferencia del agua de y para la miel. Ellos han realizado un análisis teórico de la actividad de agua, en soluciones de azúcares y miel en la cual encontraron estrecha correlación entre la actividad de agua y el % de humedad en que fue diseñada una ecuación de regresión satisfactoria en mieles argentinas.

Zamora et al. (2006), con el objetivo de examinar la base teórica de la  $a_w$  de la miel y su correlación natural con el % de humedad, determinaron la actividad de agua en altas concentraciones de glucosa, fructosa, y fructosa: glucosa (1:1) y compararon con los datos  $a_w$  de la miel existentes en la literatura, de diferentes fuentes botánicas y origen geográfico. Los resultados obtenidos seguían la misma correlación y también hubo una relación lineal aparente entre la  $a_w$  y los contenidos sólidos con la ecuación  $a_w = 0,890 - 0,0007 X$  y el coeficiente de correlación de 0,995.

### 2.2.2.3. Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica de la miel está relacionada con el contenido en sales minerales, ácidos orgánicos, proteínas y polioles (Crane, 1975) y probado como un parámetro útil para discriminar los diferentes origen florales de las mieles (Bosch-Reig y Mateo, 1984; Krauze y Zalewski, 1991; Mateo y Bosch-Reig, 1998; Popek, 1998; Terrab et al., 2002; Terrab et al., 2004), por eso varios autores han sugerido la medición de la conductividad eléctrica como una técnica indirecta para determinación de contenido de minerales en algunos alimentos. Es un valor estable que no varía significativamente durante el almacenamiento de la miel (Krauze y Krauze, 1991) y que además indica si las abejas han sido alimentadas artificialmente con azúcares (Vorwohl, 1964a, b).

Es un factor que presenta variabilidad según el origen botánico, dándose valores más altos en las mieles de bosque que en las florales (Pérez-Arquillué et al., 1990a). Así Vorwohl (1964b), observó que mieles de un mismo origen floral presentan conductividades eléctricas muy semejantes a pesar de tener orígenes geográficos y condiciones climáticas diferentes. Sin embargo, no se ha encontrado correlación entre las conductividades eléctricas y los contenidos en polen (Serra et al., 1987).

Este parámetro, que depende del contenido de minerales disueltos en el agua de miel, permite una medición mucho más rápida y menos costosa que la de las cenizas, con resultados que muestran buena repetibilidad de los datos (Balanza, 2003).

Sancho et al. (1991a-h) analizaron los distintos componentes fisico-químicos, elementos de mielada, sedimento, origen floral y tendencia a la granulación de 115 muestras de miel procedentes del País Vasco. Encontraron que la conductividad eléctrica de soluciones de miel conteniendo un 20% de materia seca podía ser estimada multiplicando por 1,50 la de soluciones de 10 g de miel en 75 ml de agua (Sancho et al., 1991h). Asimismo, Sancho et al. (1991e), elaboraron fórmulas de predicción de las cenizas totales y sulfatadas en base a la conductividad eléctrica de la miel. Posteriormente (1992), estudiaron en 30 mieles del País Vasco, la conductividad eléctrica, las cenizas solubles e insolubles, la alcalinidad de las cenizas solubles e insolubles y la alcalinidad total de las cenizas, encontrando que todas podían ser estimadas a partir de los valores de conductividad eléctrica medida a 20° C en soluciones de 10g de miel en 75 ml de agua.

#### 2.2.2.4. Tipos de acidez.

La acidez de un producto puede tener importantes implicaciones tanto en su ecología microbiana como en la rapidez y naturaleza de su alteración (Adams y Moss, 1997).

La acidez protege a la miel de los ataques microbianos y contribuye a otorgarle aroma, aunque no sea advertido en el sabor al estar enmascarada por el dulzor de los azúcares (Piana et al., 1989). Fue atribuida durante mucho tiempo al ácido fórmico adicionado a la miel por la abeja al depositar una gota de veneno durante la operculación de las celdillas (Louveaux, 1985; Graça, 1987). Sin embargo, se ha puesto en evidencia la existencia de al menos veinte ácidos orgánicos en la miel: ácido acético, cítrico, láctico, málico, oxálico, succínico, butírico, fórmico, hidroclorehídrico, fosfórico, piroglutámico y glucónico, entre otros (Louveaux, 1985). El ácido glucónico es considerado el principal ácido de la miel (Sanz y Triguero, 1970; Simal y Huidobro, 1984; Belitz y Grosch, 1997).

Según Graça (1987), los ácidos de la miel se originan fundamentalmente a partir de las secreciones de las glándulas salivares de la abeja que producen los procesos enzimáticos y fermentaciones. Esta acidez se debe a la presencia de ácidos orgánicos en equilibrio con sus lactonas y a algunos iones inorgánicos como fosfatos, cloratos y sulfatos, cuyos ácidos correspondientes son constituyentes de la miel (Pérez-Arquillué et al., 1994).

Por otro lado, si la miel es calentada en exceso se puede formar hidroximetilfurfural por deshidratación de las hexosas, el cual a su vez se descompondrá en ácidos levulínico y fórmico, contribuyendo ambos a dar cifras de acidez mayores (Montes, 1966; ICMSF, 2001). Alonso-torre et al. (2006) refieren al ácido fosfatasa que es una enzima relacionada con el origen botánico de la miel cuyos valores se relacionan con la fermentación de la miel.

Cherchi et al. (1994b), encontraron una gran variabilidad en la composición cuantitativa y cualitativa de la fracción ácida, debida posiblemente a los diferentes orígenes de los ácidos orgánicos de la miel. En ella se pueden distinguir tres tipos de acidez: libre, lactónica y total. Esta última es la suma de la libre y la lactónica. La relación acidez lactónica /acidez libre es la que más orienta sobre el origen botánico de la miel: floral o de mielada (Sancho et al., 1991a).

La acidez láctónica constituye una reserva de acidez ya que origina ácidos cuando la miel se alcaliniza. Las lactonas están constituidas básicamente por las glucolactonas, que están en equilibrio con el ácido glucónico (White, 1987) formado por acción de la glucosidasa sobre las glucolactonas. La reacción de transformación es lenta en mieles muy densas, y muy rápida en mieles fluidas. La cantidad de ácido obtenida dependerá del volumen de flujo del néctar, de su calidad, del tiempo transcurrido entre la recolección del néctar y de la replección de la celda (Simal y Huidobro, 1984; Graça, 1987). La actividad de la glucosidasa continúa después de la extracción de la miel, salvo que ésta haya sido destruida por el calor durante el procesado (Graça, 1987). White et al. (1962), encontraron valores de pH extremadamente altos en mieles de Estados Unidos que no presentaban acidez láctónica. Igualmente, Sancho et al. (1991a) en un estudio realizado en mieles del País Vasco, observaron que aquellas con menor acidez láctónica presentaban un pH más elevado. Mostafa et al. (1982), concluyen en su estudio sobre mieles libanesas que la acidez libre no está, en cambio, directamente relacionada con el pH.

La acidez de la miel también está fuertemente asociada al contenido de glucosa. Este monosacárido es convertido, a través de la enzima D-glucosa oxidasa, en ácido glucónico, el cual constituye del 70 al 90% de los ácidos orgánicos de la miel. La acidez de la miel está regida por la presencia de ese ácido y de su lactona. Durante el proceso de conversión de la glucosa en ácido glucónico también se forma peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), responsable de las propiedades antibacterianas en la miel.

Mediante la acción microbiana, el alcohol procedente de la fermentación de los azúcares se transforma en ácido (Crane, 1975), de ahí la exigencia legal de su determinación. La acidez es un importante criterio de calidad y puede variar en un amplio rango permitiéndose un máximo de 50 meq/kg en general (Anónimo, 2001a; Anónimo, 2003). Sin embargo, se describen mieles que de forma natural y recién extraídas presentan una acidez libre mayor que el límite legal estipulado, sin que por ello planteen problemas de fermentación, conservación, ni alteración (Sanz y Triguero, 1970; Riobos, 1988; Sancho et al., 1991a; Frias y Hardisson, 1991; Sanz et al., 1994).

Ambos tipos de acidez libre y láctónica, aumenta durante el almacenamiento, siendo mayor el incremento de las lactonas que de los ácidos libres. El contenido en lactonas de la miel fresca no está correlacionado con su contenido en las mieles almacenadas, pero sí existe una

correlación entre los ácidos libres antes y después del almacenamiento (Krauze y Krauze, 1991; Cavia et al., 2007). En un estudio realizado por Cherchi et al. (1994a) se observó que durante el envejecimiento de la miel, aumentó la acidez debido a la acción de la glucosidasa que transformaba los azúcares en ácidos. Pero no se encontró una correlación entre este aumento de la acidez y el modo de conservación de la miel.

Según Graça (1987), la titulación de la acidez total resultante de la hidrólisis de las glucolactonas, es un difícil proceso empírico debido a la falta de nitidez del punto final del ensayo. Actualmente, se determina la acidez libre mediante valoración potenciométrica con un álcali hasta pH 8,5 y la lactónica por retroceso, tras la adición de un exceso conocido de base (AOAC, 2003).

#### **2.2.2.5. Sólidos insolubles y sólidos totales**

El contenido de sólidos insolubles es un parámetro de gran importancia para detectar el grado de impurezas en la miel (Bogdanov, 2002) durante la obtención por su influencia en la calidad de la miel. Afecta además, a propiedades físicas del producto como la textura, estabilidad y resistencia.

#### **2.2.2.6. Color**

El color es la percepción de la luz de una cierta longitud de onda reflejada por un objeto. Se incluye dentro de las propiedades ópticas de la apariencia que dependen de las modificaciones cromáticas y geométricas de la luz en la interacción con el alimento, forma física y modo de presentación (Hutchings, 1977). El color de la miel puede variar desde casi incoloro hasta rojo oscuro, pasando por tonalidades amarillas, ámbar y marrones con matices verdes y rojos (White, 1978). La tonalidad que presenta la miel es un factor importante de clasificación desde el punto de vista comercial (Simal et al., 1983b; Louveaux, 1985; Castro et al., 1992; Serrano et al., 1994a). Bogdanov et al. (2004), reportaron que en Alemania, Suiza y Australia las mieles oscuras son las más apreciadas y según (Murphy et al., 2000) los consumidores Irlandeses prefieren mieles de color oscura.

Bogdanov et al. (2004); Terrab et al. (2004) indican que el color de la miel es uno de los atributos de mayor variabilidad y que principalmente son determinados por su origen



botánico, pero también dependen de su contenido en cenizas, temperatura y tiempo de almacenamiento. Pereyra et al. (1999) estudiaron el cambio del color inicial de la miel durante el almacenamiento y su relación con la composición. La determinación del color es indicada como una herramienta útil para la clasificación de las mieles (Castro et al., 1992).

El color puede definirse como el resultado de la interacción entre tres elementos diferentes: un foco de luz, el objeto iluminado y el observador. Los ojos y el cerebro humanos son capaces de distinguir variaciones sutiles en los tonos de los colores. Esta percepción del color está afectada por muchos factores y no sólo varía de un observador a otro, sino que varía para el mismo observador, en función del entorno y el tipo de luz, ya que son factores subjetivos.

Por otro lado, es imposible describir el color de tal manera que sea comprensible para otros observadores sin poder asignarle valores numéricos que lo caractericen. Se han creado diversos instrumentos para la medición del color, aún con el uso de alguno siguen siendo subjetivos ya que dependen de la apreciación del color por parte de un observador para la asignación del valor: comparación con cartas de colores y colorímetros que requieren del uso de filtros de vidrio para la obtención de color sustractivo, dependiendo el color de la combinación de filtros utilizada para igualar el color percibido de la muestra.

La Comisión Internacional de Color (CIE 1931, Brice 1960, Barlow 1982, Barbier y Valin 1987, McArdle 1990), a través del sistema CIELAB, posiciona el color en el espacio que se define por una combinación de las coordenadas cilíndricas y cartesianas dónde un punto se asocia a sólo un color.

CIElab (CIE, 1976) es un sistema de coordenadas dónde: **L** = Coordenada de brillo (escala de gris); **a**, **b** = Coordenadas de Cromaticidad; **C** = Intensidad o croma; **H** = tonalidad.

El eje rojo y verde se designa por el término **a**. Cuando el valor es positivo mostrará la desviación en el sentido de la tonalidad roja, cuando el valor es negativo mostrará la desviación en el sentido del verde. El eje amarillo y azul se designa por el término **b**. Cuando el valor es positivo, mostrará la desviación en el sentido de la tonalidad amarilla, cuando el valor es negativo mostrará la desviación en el sentido de la tonalidad azul. La escala de brillo se pone en el centro, perpendicularmente a los ejes **a** y **b**.

Imaginemos dos colores, **A** y **B**, posicionados en el espacio de colores basados en los respectivos valores **L**, **a** y **b**. Asumamos que el valor de **L** para los dos colores es igual, significando que los dos colores están en el mismo plano. **A** y **B** están entre el +a/Rojo y +b/Amarillo. En esta posición nosotros podemos decir que estos colores son amarillo enrojecidos (naranja). Las diferencias entre los colores se dan por los valores respectivos de **a** y **b**.  $\Delta a$  es la diferencia de los dos colores entre el rojizo y el verdoso.  $\Delta b$  es la diferencia de los colores entre el azulado y el amarillento.

El ángulo formado por los valores **a** y **b** se define por la letra **H** de tonalidad. Este ángulo se llama  $\Delta H$ . Indica la diferencia de tonalidad entre los dos colores. Si los dos vectores se emparejan entre ellos, entonces  $\Delta H$  es igual a cero y los dos colores tienen la misma tonalidad.

Un valor positivo indica la dirección del sentido anti-horario y un valor negativo indica la dirección en el sentido horario. El valor numérico de la diferencia de tonalidad  $\Delta H$  es muy importante indicar la proporción de la diferencia entre los colores, propio de la tonalidad.

La diferencia de intensidad es el  $\Delta C$ . Ésta es la diferencia de la longitud de los vectores. Un valor positivo de  $\Delta C$  indica que la muestra es más intensa o más viva que el modelo. Un valor negativo indica que la muestra, es menos saturada que el modelo. La diferencia en el brillo en CIELab se llama  $\Delta L$ . Un valor positivo indica que el color de la muestra es más claro que el modelo y un valor negativo indica que el color de la muestra es más oscuro.

La diferencia total entre dos los colores puede ser calculada a través de la diferencia entre los parámetros de la luminosidad **L** y de **a** y **b**.

Muchos analistas de color sólo tienden a usar la diferencia de color total,  $\Delta E$ , al definir las tolerancias aceptables. Este procedimiento puede causar problemas porque un término no da una evaluación visual buena. De los tres aspectos de nuestra percepción visual, la tonalidad es más crítica que la intensidad y el brillo. Si un color tiene la tonalidad correcta, podría ser incorrecto en intensidad o brillo, sin embargo sería visualmente aceptable. Si nosotros consideramos sólo la diferencia de coloración  $\Delta E$ , el color podría reprobarse. Siempre debe analizarse, junto con  $\Delta E$ , el valor de  $\Delta H$ , si las diferencias permitidas son muy bajas.

Se encuentran numerosos trabajos en los que el color de la miel se mide a través del sistema del espacio de color CIELab (Aubert and Gonnet, 1983; Ortiz Valbuena and Silva Losada, 1990; Castro et al, 1992; Persano Oddo et al., 1995; Salamanca et al., 2001; Anupama et al., 2003, entre otros), analizando variación en los parámetros L, a y b, además del ángulo tono, H.

### **2.2.3. PARÁMETROS QUÍMICOS DE LA MIEL**

#### **2.2.3.1. Humedad**

La miel es un producto que se encuadra dentro de los alimentos tradicionales de humedad intermedia. El estado del agua en la miel está sujeto a variaciones debido a que con cierta frecuencia durante el almacenamiento se producen fenómenos de cristalización (Gómez et al., 1990), provocando un aumento de la cantidad de agua en las capas superiores.

Además, debido a su gran higroscopicidad, la capa superficial de la miel tiende a captar agua del medio ambiente, de esta manera, la humedad cambia hasta alcanzar un equilibrio con la humedad ambiental (White, 1975; Serrano et al., 1994a). De ahí que las mieles almacenadas en lugares húmedos presenten un contenido acuoso mayor y sean más susceptibles de sufrir crecimiento microbiano (Sanz et al., 1995).

El contenido en agua de la miel suele oscilar entre un 13 y un 25 % (Simal et al., 1983a), dependiendo de las condiciones climáticas, de la estación de la humedad original del néctar y del grado de maduración alcanzado en la colmena (White, 1975; Pérez-Arquillué et al., 1994). La Norma de calidad de la miel (Anónimo, 2003), admite un máximo de un 20 % de humedad salvo para la miel de Calluna, que puede alcanzar hasta el 23 %.

La influencia de la humedad de la miel en el desarrollo fúngico alterante y banal ha sido estudiada, también, por (Taberly y Monteiro, 1961). Este parámetro influirá decisivamente en la conservación ya que es la fase donde se llevan a cabo la mayoría de reacciones de transformación y alteración. También condiciona el color, palatabilidad, sabor, peso específico, solubilidad y valor comercial de la miel (Crane, 1975; McGregor, 1979; Piana et al., 1989), además de estar relacionada con la concentración y variedad de los azúcares de composición y con los procesos de cristalización (Graça, 1987).

Simal et al. (1983a) analizaron la validez de diferentes métodos para la determinación del contenido en humedad de la miel: desecación al vacío, medida del índice de refracción y método de Karl-Fischer.

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

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

Por otro lado, como parámetro de calidad es importante su relación con la fermentación, pues la granulación aumenta el contenido de agua libre, haciendo a la miel susceptible de ataque microbiano (Huidobro y Simal, 1984a). Pajuelo (2004) refiere que las condiciones de almacenamiento y envasado deben ser adecuadas para que no haya pérdida de la calidad del producto, pues si la temperatura es alta, la miel corre riesgo de fermentar si la humedad es elevada (superior al 18,5 %), o de cristalizar mal.

El glicerol es un componente minoritario de la miel, probablemente producido por los microorganismos presentes en el néctar y mieladas recogidas por las abejas, por lo que puede ser considerado un producto de la fermentación (Huidobro et al., 1994; Anklam, 1998). La producción de glicerina se favorece principalmente por la presencia de contenido de agua del 20% o más, condiciones areróbicas y bajos contenidos de fosfatos, mientras que la fermentación anaeróbica tiende a producir etanol.

Entre los distintos métodos usados para la determinación del contenido en agua de la miel, cabe destacar los siguientes:

a) Por la eliminación del agua por desecación de la muestra y su medida por la pérdida de peso, recomendada por la AOAC (2000). Debido a la sensibilidad de los azúcares a las altas temperaturas, la desecación se debe realizar a baja presión (<50 mm Hg) y temperatura (60-70°C). Generalmente se añade un agente desecante inerte para aumentar el volumen y porosidad de la muestra. También se puede añadir agua a la muestra una vez pesada, con el objetivo de facilitar su manipulación (White, 1969).

b) Mediante métodos químicos, fundamentalmente el de Karl-Fischer, que permite la valoración específica del agua. Está basado en que el agua reacciona cuantitativamente con el reactivo de Karl-Fischer, que consiste en una solución de dióxido de azufre, piridina y yodo en metanol anhidro. La exactitud del método depende del control de la humedad relativa del medio ambiente. Simal et al. (1983a) proponen como modificación, el análisis directo de la muestra de miel sin realizar diluciones en metanol de la misma, obteniendo buenos resultados.

Actualmente el método oficial en España (Anónimo, 1986) y el de la AOAC (2000), es el de la medida del índice de refracción de la miel a 20°C, método estudiado por Bryan (1908), propuesto por Chataway (1932) y revisada por Wedmore (1955). No obstante, Simal et al. (1983a) comprobaron que presentaba resultados aleatorios en comparación con la determinación de la humedad mediante desecación al vacío y el método de Karl-Fischer.

Existen además, otros métodos de determinación menos usados como la densimetría, destilación, análisis polarimétricos e infrarrojos, entre otros.

#### **2.2.3.2. Azúcares.**

Según ICMSF (2001) el contenido de azúcar de los néctares de las diferentes plantas varía desde aproximadamente el 5% hasta el 80%,

Los azúcares son el constituyente mayoritario de la miel, representado del 95-99% de la materia seca. Se les atribuye gran parte de las cualidades de la miel como la viscosidad, propiedades térmicas, tendencia a la granulación, higroscopicidad, poder rotatorio, etc., (White, 1975; Huidobro y Simal, 1984e; Serrano et al., 1994b; Cavia et al., 2002). Asimismo, junto con otras sustancias como los ácidos, los compuestos nitrogenados y minerales, contribuyen decisivamente en el sabor de la miel (Huidobro y Simal, 1984e). La composición

en azúcares es útil para valorar el grado de pureza de la miel (Louveaux, 1985). Durante mucho tiempo se pensó que la fracción de azúcares en la miel estaba compuesta basicamente por glucosa y fructosa, con algo de sacarosa y dextrinas en cantidades menores. Sin embargo, los nuevos métodos de análisis y separación de azúcares han puesto en evidencia la presencia de más de 30 azúcares diferentes (White, 1975; Huidobro y Simal, 1985a).

Moreira y De María (2001) han descrito, los siguientes di- y tri-sacáridos, aunque algunos de ellos sólo están presentes a nivel de trazas y en unas pocas muestras y otros no han podido ser aún confirmados (Tabla 1).

**Tabla 1.** Di- y tri-sacáridos de la miel, según Moreira y De Maria (2001)

<b>Nomenclatura trivial</b>	<b>Nomenclatura sistemática</b>
<b>Disacáridos</b>	
Celobiosa <sup>2</sup>	O-β-D-glicopiranosil-(1→4)-D-glicopiranososa
Gentiobiosa <sup>2</sup>	O-β-D-glicopiranosil-(1→6)-D-glicopiranososa
Isomaltosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-D-glicopiranososa
Isomaltulosa <sup>4</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-D-fructofuranosa
Kojibiosa <sup>1</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→2)-D-glicopiranososa
Laminaribiosa <sup>3</sup>	O-β-D-glicopiranosil-(1→3)-D-glicopiranososa
Leucrosa <sup>4</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→5)-D-fructofuranosa
Maltosa <sup>1</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-D-glicopiranososa
Maltulosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-D-fructosa
Melibiosa <sup>4</sup>	O-α-D-galactopiranosil-(1→6)-D-glicopiranososa
Neotrehalosa <sup>3</sup>	O-α-D-glicopiranosil- β-D- glicopiranosido
Nigerosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→3)-D-glicopiranososa
Palatinosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-D-fructosa
Sacarosa <sup>1</sup>	O-α-D-glicopiranosil- β-D- fructofuranósido
Turanosa <sup>1</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→3)-D-fructosa
<b>Trisacáridos</b>	
Centosa <sup>4</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-O-α-D-glicopiranosil-(1→2)-D-glicopiranososa
1-cestosa <sup>4</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→2)-β-D-fructofuranosil-(1→2)-β-D-fructofuranósido
Erlosa <sup>1</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-α-D-glicopiranosil-β-D-fructofuranósido
4- α-gentiobiosilglicosa <sup>4</sup>	O-β-D-glicopiranosil-(1→6)-O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-D-glicopiranososa
3-α-isomaltosilglicosa <sup>4</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-O-α-D-glicopiranosil-(1→3)-D-glicopiranososa
Isomaltotriosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-D-glicopiranososa
Isopanosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-D-glicopiranososa
Laminaritriosa <sup>4</sup>	O-β-D-glicopiranosil-(1→3)-O-β-D-glicopiranosil-(1→3)-D-glicopiranososa
Maltotriosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-D-glicopiranososa
Melizitosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→3)-O-β-D-fructofuranosil-(2→1)-α-D-glicopiranosido
Panosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-D-glicopiranososa
Rafinosa <sup>2</sup>	O-α-D-galactopiranosil-(1→6)-O-α-D-glicopiranosil-β-D-fructofuranósido
Teanderosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-α-D-glicopiranosil-β-D-fructofuranósido

<sup>1</sup> Mayoritarios    <sup>2</sup> Minoritarios    <sup>3</sup> Trazas    <sup>4</sup> No confirmados

Para conocer la formación de los glúcidos en la miel se requiere conocer los procesos enzimáticos que tienen lugar en la vesícula mellífera de la abeja. Por otro lado, tanto la cantidad de néctar como su riqueza en glúcidos, son extremadamente variables, incluso dentro de una misma planta, debido a las condiciones externas (Graça, 1989).

La mayor parte de los azúcares no se encuentran en el néctar, sino que se forman durante la maduración y almacenamiento de la miel (Crane, 1975), siendo el resultado de diversos procesos enzimáticos, del proceso de transformación del néctar en miel y de las distintas reacciones no enzimáticas que se suceden (Louveaux, 1985; Piana et al., 1989). Los diferentes tipos de miel suelen tener los mismos azúcares aunque en cantidades variables, estando su porcentaje relacionado con la flora y en una menor influencia con el clima y origen geográfico (Crane, 1975). La propia fracción oligosacárida viene determinada, preferentemente, por las plantas a partir de las cuales las abejas obtienen el néctar (Belitz y Grosch, 1997). Según Sanz y Triguero (1970), las mieles de colores pálidos contienen más oligosacáridos que las oscuras, aunque éstas últimas son ricas en dextrinas.

Varios autores han encontrado una correlación entre la composición en azúcares y el origen botánico de la miel, pero la gran variedad de métodos analíticos empleados hacen difícil la comparación directa de los resultados (Sabatini et al., 1989). La composición en azúcares puede ser usada para diferenciar mieles de flores de las de mielada y sus mezclas. Huidobro y Simal (1984e), en un estudio realizado en mieles de Galicia, obtienen como resultado que se trata, en su mayoría, de mieles de mielada y sus mezclas con las mieles de flores. Paralelamente, realizaron un estudio comparado estas mieles y mieles comerciales, observando que estas últimas, por su contenido azucarado, correspondían al tipo floral.

Los dos azúcares cuantitativamente predominantes en la miel son la fructosa y la glucosa (Alamanni, 1994), que representan del 85 al 95% del total, estando la fructosa en mayor concentración con un 38% por término medio y la glucosa con un 31% (Louveaux, 1985). Sólo algunas excepciones como la miel de diente de león (*Leontodon autumnalis*, L), de colza (*Brassica napus*, L) presentan un contenido en glucosa mayor que en fructosa (White, 1975). El valor medio de la relación Fructosa/Glucosa es 1,2:1 (White, 1978; White, 1980). Son muy raras las mieles de flores con cantidades superiores de glucosa, aunque hay algunas como la miel de colza. Las mieles de mielada son pobres en ambas hexosas (Tzu Chang Chou et al., 1994).



La concentración de la sacarosa es muy variable, dependiendo del tipo de miel y de su estado de maduración (Serra et al., 1987). Altos contenidos en sacarosa pueden ser debidos a una maduración inadecuada, presencia de mielatos o alimentación artificial de las abejas con jarabe de sacarosa durante mucho tiempo (Serra, 1986; Serra et al., 1987).

La sacarosa no es un adulterante potencial ya que los azúcares invertidos pueden ser añadidos a la miel en cantidades considerables sin que quede fuera de los rangos establecidos por la legislación (White, 1980). Parece ser que ciertos tipos florales dan lugar a mieles con elevados contenidos en sacarosa, a veces superiores al límite del 10% marcado por las normativas internacionales para las mieles de espliego, acacia y mielada (Anónimo, 2001a; Anónimo, 2003). Las mieles frescas de *Citrus spp* españolas no podrían ser comercializadas por el alto contenido en sacarosa que presentan, superior al límite legal (Serra y Ventura, 1995). Chandler et al. (1974), encontraron mieles florales australianas también con un contenido en sacarosa superior al 5% establecido por la legislación para mieles florales, pero al constatar que se trata de mieles no adulteradas, suponen que es debido a la composición anormal en azúcares de esas mieles. Se ha observado que estos altos porcentajes pueden disminuir durante el almacenamiento (Huidobro y Simal, 1985; Serra et al., 1987). En cambio las mieles de eucalipto presentan un bajo contenido en sacarosa, significativamente diferente a otras mieles monoflorales españolas (Serra et al., 1987; Serra y Cañas, 1988).

Además de los principales constituyentes señalados, los monosacáridos fructosa y glucosa, están los componentes menores, que consisten en unos 25 oligosacáridos (di-tri- y tetrasacáridos). La miel es una mezcla extremadamente compleja y variable de azúcares y otros componentes que al envejecer sufre cambios en la composición de azúcares, aumentando los disacáridos reductores y la sacarosa a costa del descenso en el contenido en fructosa y glucosa. De forma natural, la miel de mielada presenta un contenido más bajo en azúcares reductores y mayor en sacarosa y melecitosa (White, 1978; Crane, 1985).

White et al. (1961), encontraron que con el tiempo, el contenido en monosacáridos disminuía y en cambio aumentaban los disacáridos y trisacáridos en mieles almacenadas a temperatura ambiente. Estos cambios fueron atribuidos a las reacciones enzimáticas y a la reversión ácida, fenómeno por el que se combinan los monosacáridos debido a la alta concentración en azúcares y la acidez de la miel.

Haremi (1978), estudió el efecto del envejecimiento en la miel a 50°C, señalando un oscurecimiento, un aumento de la turanosa y una disminución de la concentración de sacarosa, melecitosa y del contenido total en azúcares. Pérez-Arquillué y Benito (1985), refieren a los azúcares de la miel, que son afectados negativamente por un almacenamiento prolongado a temperaturas superiores a 27°C y por un tratamiento térmico superior a 75°C.

Hişil y Bağdatlıoğlu (1994), realizaron un estudio de los cambios producidos en los azúcares de la miel durante su almacenamiento, observando que éstos sucedían sobre todo en las muestras incubadas a 35°C. Concluyeron que la principal razón del cambio en los azúcares, de acuerdo con White et al. (1961), es debida a la reversión ácida y a la acción de las enzimas ya que la temperatura de incubación fue la óptima para la enzima transglucosidasa que actúa sobre la glucosa. Además, por otro lado, la fructosa sufre una degradación a hidroximetilfurfural, por acción del tiempo y la acidez, disminuyendo su porcentaje en la miel.

Jiménez et al. (1994), observaron que mieles almacenadas durante 2 años en refrigeración, apenas cambiaron su concentración en monosacáridos; en cambio aquellas muestras que se conservaron a temperatura ambiente o a 28°C sufrieron un descenso del contenido en fructosa, glucosa y sacarosa y un incremento de turanosa y maltosa. Asimismo, el contenido en agua influyó de forma significativa sobre la glucosa y fructosa. Krauze y Krauze (1991) y Cherchi et al. (1994a), encontraron que con el tiempo disminuía el contenido en glucosa, fructosa y sacarosa de la miel y aumentaba el de los azúcares reductores, principalmente la maltosa.

Serra et al. (1987), en un estudio sobre mieles monoflorales españolas, observaron que tras cuatro meses se produjo un ligero aumento del porcentaje de monosacáridos (0,7%), una sensible disminución del contenido en sacarosa (1,5 %), traducida en un aumento de los de maltosa, isomaltosa y trisacáridos, con ligeras variaciones en otros disacáridos.

Según Balanza (2003), tanto el contenido de fructosa como la relación Fructosa/Glucosa, podrían servir para la caracterización de la miel de una determinada procedencia, especialmente su origen botánico ya que, aunque presentan alguna variabilidad, pueden encontrarse dentro de determinados rangos para algunas mieles monoflores. Una relación F/G baja, además de provenir de una adulteración, podría ocurrir por la acción de levaduras

osmofílicas, en mieles con contenido de agua superior al 20% las cuales tendrían mayor afinidad por la fructosa como fuente de carbono.

Los primeros métodos usados para la determinación de los azúcares no reflejaban la verdadera composición de la muestra. Además, la variabilidad debida a los métodos era mayor que la debida a las diferencias entre varios tipos de miel (Donner, 1977). El descubrimiento de la cromatografía de gases en 1963, que transformaba los azúcares en sus correspondientes derivados que vaporizaban a una temperatura inferior a la de pirólisis, revolucionó el análisis de los azúcares en la miel (Sabatini et al., 1989). Sin embargo, las condiciones analíticas aún no permiten el suficiente grado de separación y óptima elución de los componentes con el alto punto de ebullición utilizado.

Actualmente, entre los métodos más usados para la determinación de los azúcares en la miel destacan la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) y los métodos enzimáticos. La primera, incluida en la legislación española (Anónimo, 1986) y en la AOAC (1990), se utiliza para separar y cuantificar los mono y disacáridos presentes en la miel. Un extracto de la muestra pasa a través de una columna de intercambio iónico activada con etanol-agua y los monos y disacáridos son separados mediante elución con este alcohol.

Los métodos enzimáticos para la determinación de la fructosa, glucosa y sacarosa, han sido recomendados como técnica rutinaria y de investigación en la miel por su especificidad y fácil y rápido manejo de la muestra (Gonnet, 1979, Sanz et al., 1994; Huidobro y Simal, 1984d; Frías et al., 1993; Alamanni, 1994). La concentración de los diferentes azúcares viene dada espectrofotométricamente por vía indirecta, determinándose el incremento en NADPH que se forma de la reacción entre la glucosa-6-fosfato y NADP, en presencia de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

Huidobro y Simal (1984e) determinaron el contenido en azúcares en 91 mieles gallegas y 24 comerciales, observando un predominio de mieles de mielada o su mezcla con miel de flores en las procedentes de Galicia, frente a la mayoría de origen floral de las comerciales. Sin embargo, la concentración de fructosa encontrada indicaría un origen típicamente floral para las mieles de Galicia analizadas.

Serra (1988) y Serra y Cañas (1988) caracterizaron las mieles de *Lavandula latifolia* y eucalipto (*Eucalytus* spp.) respectivamente, producidas en España. Posteriormente (Serra, 1989), llevó a cabo un estudio sobre la validez de los índices fructosa/glucosa, glucosa/agua, (glucosa-agua)/fructosa y Tabouret, para predecir la cristalización de la miel.

Sancho et al., (1990), realizaron un estudio comparado de los métodos de cromatografía líquida de alta resolución y enzimático para la determinación de fructosa y glucosa en la miel.

Para la determinación de la sacarosa, algunos autores utilizan el método de inversión Walker (Huidobro y Simal, 1984e), citado en la AOAC (2000) y como método oficial en España (Anónimo, 1986).

### **2.2.3.3. Cristalización de la miel.**

La miel es una solución sobresaturada de azúcares, por lo que alcanza el equilibrio con la cristalización, tendiendo a granular en la mayoría de los casos (Crane, 1975). Esta es debida a la precipitación de los cristales de glucosa cuyo crecimiento provoca la separación de la miel en dos fases, una fase sólida constituida por cristales de glucosa y otra fase superior líquida con un mayor contenido en agua, lo cual favorece el crecimiento microbiano y las fermentaciones (Donner, 1977; Graça, 1987). Esta cristalización de la miel es un fenómeno natural cuya velocidad varía dependiendo de factores como el contenido en agua, la composición en azúcares y la temperatura de conservación. Cuando la cristalización es lenta, el tamaño de los cristales es mayor (White, 1975). Las mieles cristalizadas no suelen tener buena aceptación por parte de los consumidores y además presentan el riesgo de fermentación si la granulación no es homogénea (Sancho et al., 1991d).

Cuando la temperatura de almacenamiento es de 5 a 7°C se favorece la creación de cristales de glucosa (De Boer, 1932), siendo más rápida la cristalización a 14°C. Las bajas temperaturas (por debajo de los 10°C) retrasan el crecimiento de los cristales, que cesa a partir de los 25° C. Los cristales desaparecen a 78° C (Louveaux, 1985).

La granulación se ve favorecida por la existencia de nucleos de cristalización que actúan aglutinando a su alrededor las moléculas de azúcar; los más frecuentes son los microcristales de glucosa de diferente tamaño, granos de polen, partículas de cera, polvo y burbujas de aire.

La mayoría de ellos están presentes en todas las mieles (Siddiqui, 1970; Serra, 1986; Serra, 1989).

Al aumentar la viscosidad se inhibe la cristalización ya que la migración de los cristales de glucosa en la fase líquida será muy lenta (Crane, 1985; Serra, 1986). Otro efecto importante, es que durante el llenado de los contenedores de miel se pueden quedar atrapadas pequeñas burbujas de aire que actúan como núcleos de cristalización, pero en las mieles más fluidas, estas burbujas pueden escapar con mayor facilidad que en las mieles más viscosas (Hanna et al., 1991).

Según Crane (1975) y White (1978), las mieles con un contenido de agua menor a un 17% tienen más posibilidades de granular que las que presentan un porcentaje mayor.

La fructosa inhibe la cristalización ya que aumenta la solubilidad de la glucosa en la miel (Crane, 1975). En general, las mieles con un porcentaje menor al 30% de glucosa tiende a cristalizar más lentamente, al igual que las que poseen menos del 10% de melecitosa (Crane, 1975; White, 1978).

White et al. (1962), demostraron estadísticamente que la tendencia de la miel a cristalizar está relacionada con la proporción entre la concentración de glucosa y la cantidad de agua (glucosa/agua). Para valores inferiores a 1,60 la cristalización es prácticamente nula o muy lenta, en cambio valores superiores a 2 es más rápida y completa.

En un estudio sobre los azúcares y la cristalización en mieles de Tenerife (Frias, 1993) observó que los niveles de sacarosa eran muy superiores a los obtenidos por otros autores en mieles españolas, concluyendo que presentaban una baja tendencia a la cristalización y que el índice de predicción de la tendencia a la granulación menos indicativo era el de Tabouret.

Se han propuesto numerosas fórmulas de predicción de la tendencia a la granulación de la miel utilizando diferentes parámetros fisicoquímicos. Los principales índices son los siguientes:

- Bosch et al. (1932), encontraron que las mieles cristalizaban con cocientes de relación fructosa/glucosa de 1,00 a 1,20 y que este proceso raramente se manifestaba con

relaciones superiores a 1,30. Pero no se considera un buen parámetro para evaluar la granulación ya que no tiene en cuenta el contenido en agua (Sancho et al., 1991d). Se estima que mieles con una relación fructosa/glucosa mayor a 2 no granularán (Crane, 1975).

- La relación glucosa/agua fue propuesta por Austin (1953), y presenta un valor dudoso en la predicción ya que en mieles con un bajo contenido en agua, la granulación es menor que la que correspondería según esta relación (Crane, 1975; Siddiqui, 1970).

- La relación (glucosa-agua)/fructosa fue establecida por Jackson y Silsbee (1924), e investigada por Chandler (1977). Se considera un buen parámetro para investigar la cristalización ya que tiene en cuenta la acción inhibidora de la fructosa (Sancho et al., 1991d).

- Ninguno de los índices anteriores fue válido en el estudio realizado por Chandler et al., (1974) sobre mieles australianas.

- El coeficiente de sobresaturación depende de los contenidos en agua, fructosa y glucosa de la miel, pero tampoco es un buen índice de predicción ya que además de estar condicionado por la temperatura, no tiene en cuenta el hecho de que la miel suele cristalizar fraccionadamente, haciendo que disminuya este parámetro durante el proceso de granulación (Serra, 1989).

- La validez de predicción del índice de Codounis (1962), es similar a la de la relación glucosa/agua. Se calcula mediante la fórmula:

$$\text{Indice Codounis} = 100/\text{glucosa} - (\text{agua/glucosa})^{-1}$$

- El índice de Tabouret (1979) es uno de los mejores índices de predicción ya que además del contenido en glucosa y agua, tiene en cuenta la actividad de agua. Se calcula según la fórmula:

$$I_2 = (\text{Glucosa/agua})/(1 - a_w)^n$$

Donde n depende de la humedad, siendo 1 para valores superiores al 17% y 2 para los inferiores.

Serra (1989), estableció diferentes grados de cristalización con un significado en función de las relaciones fructosa/glucosa, glucosa/agua, (glucosa-agua)/fructosa y el Índice de Tabouret, tal y como se indica en el (Tabla 2).

**Tabla 2.** Grados de cristalización en función de varios índices según Serra (1989).

Grados de cristalización	Aspectos de la cristalización	F/G	G/A	(G-A)/F	I <sub>2</sub>
0	Líquida	>1,33	<1,70	<0,30	<9,80
2	Capa de cristales de 2-3 mm	>1,21	>1,79	<0,36	<10,70
4	Capa de cristales de 8-12 mm	>1,18	<1,86	<0,38	<11,30
6	½ del envase cristalizado	>1,16	<1,99	<0,42	<12,10
8	Cristalización suave completa	>1,11	>2,16	<0,49	>12,60

F: fructosa, G: glucosa, A: agua, I<sub>2</sub>: índice de Tabouret.

Según Sancho et al. (1991d), experimentalmente el índice de Tabouret es el mejor para predecir la tendencia a la granulación de la miel.

Para retrasar la cristalización en las mieles industriales se toman medidas tales como la pasteurización y el filtrado a presión. Con la primera se disuelven los cristales presentes en la miel y se evita la fermentación al eliminar los hongos presentes, aunque el calentamiento excesivo altera el aroma y sabor de la miel (White, 1975). Mediante el filtrado a presión se eliminan los núcleos de cristalización como los cristales de glucosa, las burbujas de aire y los granos de polen, además de adquirir la miel un tono más claro y brillante (Hanna et al., 1991).

#### 2.2.3.4. Elementos minerales. Cenizas

El porcentaje de minerales en la miel es muy bajo en comparación con otros componentes; sin embargo, existen en una gran variedad siendo el potasio el elemento más común, correspondiendo prácticamente a un tercio del contenido en cenizas, seguido por el sodio con una décima parte (White, 1978; Huidobro y Simal, 1984d; Poiana et al., 1996). Por otro lado La Serna Ramos et al. (1999) refieren al potasio como el elemento más abundante en la miel seguido de cloro, azufre, sodio, fósforo, magnesio, silicio, hierro y cobre. Estos componentes la convierten en un producto con un valor alimenticio superior a los azúcares refinados y

jarabes (White, 1978; Huidobro y Simal, 1984d). Además, influyen en su color y en el sabor, de modo que las mieles con una mayor cantidad de cenizas son más oscuras y de sabor más fuerte (Sancho et al., 1991h).

La cantidad y variedad de los minerales que contiene la miel se encuentran influidas por los nutrientes que originalmente puede contener la planta, la disponibilidad de éstos en el suelo, así como por las contaminaciones del suelo y medio ambiente. En un estudio realizado por Serra y Cañas (1988) sobre mieles de eucalipto de Huelva, se encontraron niveles de plomo superiores a 1 ppm originados por la contaminación medio ambiental procedente de las industrias petroquímicas de la zona. Por lo tanto, el exceso o defecto de ciertos elementos químicos en suelos, rocas o en el agua, quedará reflejado en la composición química mineral de las plantas y, por consiguiente, en el néctar y polen (Guizelan y Guizelan, 1971). Existe mucha variación en los datos reportados por diversos investigadores (Perez-Cerrada et al., 1989; Rodríguez-Otero et al., 1994, 1995), aunque a los efectos de la evaluación del ambiente en que la miel ha sido producida, se prefiere analizar el contenido de ciertos metales pesados como plomo, cadmio, zinc, (Przybylowski y Wilczynska, 2001; Rashed y Solton, 2004).

El parámetro tradicionalmente utilizado para medir el contenido de minerales es la cantidad de cenizas presentes en las muestras de la miel. Sin embargo en los últimos años se ha propuesto agregar la conductividad, que es un parámetro que depende del contenido de minerales disueltos en el agua de la miel, permite una medición mucho más rápida y menos costosa que la de las cenizas, con resultados que muestran buena repetibilidad de los datos (Balanza, 2003; Acquarone et al., 2007).

El contenido en cenizas de la miel, término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de oxidar totalmente la materia orgánica, está relacionado con la conductividad eléctrica (Crane, 1975; Accorti et al., (1986, 1987), encontraron una correlación positiva entre la conductividad eléctrica de soluciones de miel al 20% de materia seca y su contenido en cenizas totales. Posteriormente, Sancho et al. (1991g) determinaron que a partir de la conductividad eléctrica medida en materia húmeda a 20° C, podían predecirse las cenizas totales, sulfatadas, solubles e insolubles y su alcalinidad correspondiente en la miel.



Las propiedades físico-químicas, composición y polen de las mieles de brezo (*Calluna vulgaris*) producidas en España, fueron estudiadas por Serra y Granados (1993). Serra y Ventura, (1993); Martínez et al., (1993), investigaron las mieles españolas de cantueso (*Lavandula stoechas*) y de eucalipto (*Eucalyptus spp.*), respectivamente. Mediante recuento en placa y métodos de filtración de membrana, (Serra y Escolá, 1993) determinaron gérmenes aerobios mesófilos en 72 muestras de miel, observando que al haber crecimiento de bacterias con crecimiento invasivo, la lectura en placa era poco fiable, y en cambio con método de filtración de membrana fue posible realizar el contaje en todas las muestras.

También se relaciona el contenido en cenizas con el origen de la miel: floral o mielada (White, 1978), siendo superior en éstas últimas. Anónimo (2003), establece un contenido máximo de cenizas en 0,6% para las mieles florales y en un 1% para las de mielada. Mostafa et al. (1982), encontraron que abejas alimentadas artificialmente presentaban una miel con contenidos menores en potasio y mayores en calcio que en mieles de flores.

La determinación de los minerales de la miel se hace mayoritariamente por espectroscopía de absorción atómica (Frías et al., 1991; Rodríguez-Otero et al., 1992; Sauri y Hernández, 1994; Salinas et al., 1994b; Rodríguez-Otero et al., 1994) y por espectroscopía de emisión por plasma acoplado inductivamente (Fodor y Molnar, 1993; Salinas et al., 1994b; Jamoussi et al., 1995).

Otros métodos usados son: fotometría de llama, polarografía, colorimetría, complexometría y cromatografía iónica de alta resolución (Rodríguez-Otero et al., 1992; Rodríguez-Otero et al., 1994; Sánchez y Pujolá, 1996; Poiana et al., 1996).

La determinación de cenizas se hace básicamente por el procedimiento de incineración. En la preparación de la muestra antes de la calcinación para evitar pérdidas de la muestra y sus consiguientes errores, los autores siguen diversas variantes. Comenge (1964) somete la muestra a una desecación a 11° C antes de su incineración, Sanz y Triguero (1970) siguen el método de la AOAC (1970) que realiza la desecación mediante la acción de una lámpara infrarroja. Manuel Suisse (1974) recoge una modificación en la que para facilitar la incineración, se añade una cantidad conocida de nitrato de lantano.

Anónimo (1986) y AOAC (2000), contemplan el uso de lámpara de rayos infrarrojos para carbonizar la muestra antes de introducirla en el horno, e incluso en caso necesario puede añadirse unas gotas de aceite de oliva para evitar la formación de espuma, lo que trae consigo errores en su determinación.

#### **2.2.4. FRESCURA DE LA MIEL**

El grado de frescura de la miel es valorado mediante la medida de dos índices: actividad diastásica y contenido en hidroximetilfurfural.

Aún cuando el contenido enzimático no es considerado de utilidad para evaluar la calidad de la miel en algunos países (White, 1992), en Europa la actividad diastásica y el hidroximetilfurfural siguen siendo utilizados en la evaluación de la frescura de la miel (Hardon et al., 1962; Anónimo, 2003) y ambos pueden ser usados como indicadores del procesado de la miel y de las condiciones de almacenamiento (Huidobro et al., 1995).

El procesado de la miel lleva consigo tratamiento con calor, lo que hace disminuir las enzimas y aumentar el contenido en hidroximetilfurfural. Pero sólo tratamientos abusivos llevarían estos índices fuera de los límites establecidos por la legislación española (Sanz et al., 1994; Huidobro et al., 1995).

##### **2.2.4.1. Actividad diastásica**

El enzima más importante de la miel es indudablemente la invertasa, también conocida como sacarasa, cuya función es fundamental en la conversión del néctar en miel ya que actúa hidrolizando la sacarosa y dando productos finales la glucosa y fructosa y como producto intermedio, erlosa (White, 1975).

Huidobro y Simal (1984c), señalan tres enzimas de la miel de gran importancia, amilasa, invertasa y glucosa oxidasa. Muchos países requieren valores mínimos para la actividad diastásica o amilasa, que se degrada fácilmente con el calor y con el envejecimiento, desapareciendo la mitad de su contenido en 17 meses a temperatura ambiente. Algunas mieles contienen de forma natural un bajo contenido enzimático, como las de cítricos (Huidobro y Simal, 1984c). La diastasa o amilasa posee un pH óptimo de 5-5,3 e hidroliza el almidón en

glucosa (Frías y Hardisson, 1992). Y en unión con el contenido en hidroximetilfurfural, indica el grado de “stress” sufrido por la miel (Belitz y Grosch, 1988; Piana et al., 1989).

White et al. (1964), demostraron que la invertasa se destruía más rápidamente por acción del calor sobre la miel que la diastasa, suponiendo por tanto que la actividad de la invertasa podría ser mejor indicador de la calidad de la miel que la diastasa. Takenaka y Echigo (1974), observaron que el contenido en ambas enzimas disminuía durante el almacenamiento, siendo mayor el descenso en mieles con un elevado contenido acuoso. Estudios posteriores seleccionaron a la diastasa como mejor índice del grado de envejecimiento de la miel que la invertasa, al ser ésta el doble de estable (Krauze y Krauze, 1991) y teniendo en cuenta que la actividad de la invertasa depende más del manejo por parte de los apicultores que del tratamiento dado a la miel (Laude et al., 1991). Huidobro et al. (1995), encontraron relación entre la actividad de la diastasa, la invertasa y la  $\beta$ -glucosidasa en la miel, sugiriendo la posibilidad de poder predecir la actividad de algunos de los enzimas en función de otros. Serrano et al. (2007) encontraron una correlación entre las actividades de la diastasa y invertasa ( $r = 0.853$ ).

El grado de frescura de la miel afecta al aroma (White et al., 1964). Sobre esta base se ha tratado de establecer una posible correlación entre la actividad diastásica de la miel y sus componentes aromáticos, concretamente el antranilato de metilo, presente en mieles de críticos. Sin embargo, no se ha observado la existencia de linealidad entre ambos tipos de parámetros (Serra, 1988b). Bodganov et al. (1997) refieren que daños causados por el calentamiento de la miel pueden ser evidenciados con la determinación de los contenidos de actividad diastásica y HMF, pues estos parámetros juntos son usados como indicadores de un calentamiento intensivo (Ramírez et al., 2000).

Huidobro et al. (1995) llevaron a cabo un estudio sobre la actividad enzimática de las enzimas diastasa, invertasa y  $\beta$ -glucosidasa en mieles frescas de Galicia, concluyendo que la actividad de la invertasa podía ser usada para predecir la actividad de las otras dos enzimas consideradas.

Por otro lado (Anklam, 1998) refiere a la diastasa, que normalmente se utiliza como índice del calentamiento sufrido por la miel durante el proceso o las condiciones de almacenamiento como valor menos exacto que el del contenido de HMF, dado que la actividad enzimática

varía mucho de una muestra de miel a otra, debido a que la cantidad de saliva con enzimas segregadas por las abejas durante la elaboración de la miel puede variar bajo condiciones diferentes. Tosi et al. (2008) refieren a la actividad diastásica como un parámetro poco fiable para determinar si la miel fue sometida a calentamiento.

En la Norma de Calidad para la miel (Anónimo, 2001a), se señala un mínimo de 8 grados en la escala Gothe, excepto para aquellas mieles con bajo contenido enzimático, que pueden poseer un mínimo de 3° en la misma escala, siempre que no presenten un valor de hidroximetilfurfural superior a 15 mg/kg.

#### **2.2.4.2. Hidroximetilfurfural (HMF).**

El hidroximetilfurfural (HMF) no es un componente normal de la miel sino que es un aldehído cíclico que se forma a temperatura ambiente por deshidratación de la fructosa en medio ácido (valor medio de pH 3,9), proceso que se acelera con el calentamiento o el almacenamiento a elevadas temperaturas (White y Siciliano, 1980; Huidobro y Simal, 1984 b). Su contenido, está en relación directa con el calor al que ha sido sometida la miel y con su grado de envejecimiento (Bosch y Serra, 1986). Su presencia produce oscurecimiento por interrelaciones con compuestos aminados y azúcares, sufriendo polimerización y reordenación tanto en presencia como en ausencia de oxígeno (Jeuring y Koppers, 1980; Moreno y De la Torre, 1983).

Según (Anónimo, 2001a; Anónimo, 2003) se admite hasta un máximo de 40 mg/kg en general y un 80 mg/kg para climas tropicales. Se ha demostrado que la tasa de formación de HMF está relacionada directamente con la humedad y el contenido inicial del mismo en la miel (Schade et al., 1958). También la acidez ejerce un efecto positivo en su formación, como se ha comprobado en mieles suizas calentadas con una baja tasa de HMF, debido a su alto pH (4,5-5,0) (Hadorn et al., 1962). La concentración de HMF también está relacionada con la actividad enzimática existente, de modo que aquellas mieles con un índice de diastasas bajo, posiblemente poseerán cifras altas de hidroximetilfurfural (Huidobro y Simal, 1984b), lo que sería indicativo de una conservación inadecuada.

De igual modo, el contenido de HMF va aumentando espontáneamente con el transcurso del tiempo a temperatura ambiente, observándose una notable diferencia del incremento según

procedan de zonas frías o cálidas, siendo éstas últimas, según estudios en mieles españolas, las que presentan valores superiores (Bosch y Serra, 1986). Además se ha evidenciado, durante el almacenamiento, un menor incremento de HMF en mieles naturales que en comerciales, circunstancia que se atribuye a un pH más alto de aquellas (Huidobro y Simal, 1985b). La presencia de altos contenidos de hidroximetilfurfural también puede ser indicativa de la adición a la miel, de azúcar invertido obtenido por hidrólisis química (Serra y Gómez, 1986). En 1986, Bosch y Serra llevaron a cabo un estudio sobre la evolución del contenido en hidroximetilfurfural en las mieles procesadas y comercializadas en el mercado español.

Frías y Hardisson (1990) analizaron el contenido en hidroximetilfurfural e índice de distasas en mieles de Tenerife. Posteriormente Frías y Hardisson (1991), realizaron un estudio comparado de distintos parámetros físico-químicos e índices de envejecimiento en mieles comerciales y artesanales de Tenerife, observando que los azúcares presentaban porcentajes superiores en las mieles artesanales, siendo el contenido en hidroximetilfurfural mucho menor. Frías et al. (1991) investigaron el color y el contenido mineral en mieles de consumo frecuente en Santa Cruz de Tenerife, encontrando mieles con un contenido en cenizas, indicativo de un origen floral, y altos contenidos de hierro en las mieles rojizas.

Pérez-Arquillué et al. (1990a), llevaron a cabo un estudio de diferentes parámetros físico-químicos en mieles de romero (*Rosmarinus officinalis*), frutales (*Prunus amygdalus* + *Prunus sp.*), zadorija (*Hypocoum procumbens*) y sauce (*Salix sp.*), procedentes de Zaragoza y evaluaron el grado de frescura en 62 muestras de mieles de Aragón (Pérez-Arquillué et al., 1990b). Posteriormente (Pérez-Arquillué et al., 1994), investigaron las características físico-químicas, espectro polínico, grado de frescura y caracteres organolépticos de las mieles de romero.

Herrero y Peña, (1993), demostraron que el método estadístico de multivariadas podía ser usado con éxito para la clasificación geográfica correcta de mieles de distintos orígenes. Jiménez et al., (1994), estudiaron los cambios producidos durante el almacenamiento de la miel en la flora fúngica y diversos parámetros físico-químicos, con el objeto de determinar las mejores condiciones de conservación para prevenir su alteración. En 91 mieles gallegas, Rodríguez et al. (1994), analizaron el contenido en sodio, potasio, calcio, magnesio, cobre, hierro, sulfato, fosfato y manganeso.

Salinas et al. (1994b) en mieles de distintos orígenes florales procedentes de Badajoz y Cáceres, determinaron los elementos minerales por análisis en flujo acoplado a la espectroscopía atómica, observando que las mieles más oscuras presentaban un mayor contenido en todos los elementos minerales, así como presencia de altos contenidos en magnesio y manganeso en las mieles de mela y brezo (*Erica spp*).

Rodríguez et al. (1995) determinaron el contenido en silicio, fósforo, azufre y cloro en 24 mieles comercializadas en Galicia. Asimismo, Serra y Ventura (1995) caracterizaron las mieles de cítricos (*Citrus spp*) en 15 muestras españolas.









### **III. OBJETIVOS**







### **III. OBJETIVOS.**

#### **3.1. Objetivos Generales**

1. Determinar los diversos parámetros físicos y químicos que sirven para caracterizar y/o tipificar la miel de abejas que se obtiene en las diferentes zonas productoras de Mozambique.
2. Evaluar los componentes principales, así como posibles correlaciones entre parámetros físicos y químicos que permitan caracterizar y/o diferenciar las mieles de Mozambique.

#### **3.2. Objetivos Específicos.**

1. Describir los respectivos sistemas de explotación y obtener información sobre las condiciones de producción, obtención, comercialización y aspectos higienico-sanitarios de la miel.
2. Conocer las características higiénicas del proceso de obtención de la miel para poder proponer unas buenas prácticas higiénicas.
3. Evaluar la calidad higienico-sanitaria de la miel.
4. Determinar las características físico-químicas de estabilidad y riesgos potenciales para el consumidor mediante variables (pH, actividad del agua, conductividad eléctrica, acidez).
5. Estudiar la composición química (humedad, sólidos insolubles, sólidos totales, azúcares, cenizas, actividad diastásica, hidroximetilfurfural, color).
6. Comprobar el origen floral o de mielada de las mieles, en función de los niveles obtenidos en algunas de las variables estudiadas (conductividad eléctrica, pH, cenizas).
7. Determinar las variables que mejor indican la procedencia de cada miel mediante la aplicación del análisis de componentes principales.

8. Verificar, mediante aplicación del análisis *cluster* a la globalidad de los datos obtenidos, si es lógica una clasificación de las mieles de Mozambique dependiente de las regiones de vegetación o si, por el contrario, nos encontramos ante una sola variedad de miel de Mozambique.

Todos estos objetivos se condensan en el principal móvil del planteamiento de este estudio que es contribuir a un mejor conocimiento de la miel de Mozambique con vista a la obtención de una *Denominación de Calidad*. Con ella se definirá un producto selecto, destinado a un consumo y a un mercado exigente.

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**





## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. MATERIAL EXPERIMENTAL

#### 4.1.1. Recogida de datos

Para el presente trabajo se ha hecho una prospección, de las zonas con más potencial de producción de miel, en Mozambique. Se visitó a los productores de las diferentes regiones incluyendo cooperativas de apicultores y asociaciones, para entregarles y responder la encuesta preparada (Tabla 3).

#### 4.1.2. Recogida de muestras

Se han tomado 189 muestras de zonas rurales de las 4 provincias de Mozambique: Manica, Sofala, Inhambane y Maputo con diferencias en su climatología, vegetación, geografía y potencial de producción (**Figura 12**). Se ha realizado en las épocas seca y lluviosa y durante los años 2004 /2005/2006.

**Región A:** Manica está localizada en el centro de Mozambique y se caracteriza por ser una región con vegetación tipo sabana, con árboles y arbustos de un elevado potencial para la producción de miel. Presenta un clima sub-tropical templado, abundancia de recursos hídricos, algunos de régimen periódico con ciertas reservas.

**Region B:** Sofala está localizada en el centro, se caracteriza por una flora melífera de especies nativas como Muinbe, Messassa, Mufuti, Furua, Mussadze y Tschuruza y algunas especies agrícolas como: maíz, mapira, hortícolas y frutales (cítricos, mangas, aguacates, bananas).

**Region C:** Inhambane está localizada en el sur de Mozambique se caracteriza por ser una región con vegetación tipo sabana, con árboles y arbustos de un elevado potencial para la producción de miel.

**Grupo D:** Maputo está en el sur de Mozambique se caracteriza por ser una región dominada por una vegetación natural, con árboles de un elevado potencial para la producción



## **4.2. MÉTODOS**

### **4.2.1. Encuesta**

Con el fin de facilitar la recopilación de información de cada muestra de miel recogida para este estudio, se elaboró una encuesta (Tabla 3) que nos sirviera de guía, para conocer las prácticas asociadas a la producción de la miel, el sistema de extracción y las características higiénico-sanitarias incluyendo aspectos sobre la calidad.

En la encuesta se incluyen aspectos tales como la zona geográfica de origen, fecha de cosecha, método de extracción, tiempo de maduración tipo de envasado y todas aquellas operaciones referidas al origen, procesado, almacenado y venta, que repercuten en la calidad de la miel.

**Tabla 3.** Modelo de encuesta

<b>FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UAB</b>	
<b>Departamento de Higiene e Inspección de los Alimentos</b>	
ENCUESTA DE MIELES ARTESANALES DE MOZAMBIQUE	
Nome del Apicultor.....	.....
Zona de Recogida.....	.....
Localidad.....	Provincia.....
Numero de Apicultores por zona.....	.....
Nombre de la asociación.....	.....
Vegetación visitadas por las abejas.....	.....
Sistema de extracción.....	.....
- Centrifugación <input type="checkbox"/>	- Prensado <input type="checkbox"/>
- Manual <input type="checkbox"/>	
Fecha de recogido de mel.....	.....
Tipo de explotación: Familiar <input type="checkbox"/> Industrial. <input type="checkbox"/>	.....
Aspectos de producción:	
Número de colmenas.....	.....
Tipo de colmenas usadas.....	.....
Quantas épocas de producción tiene.....	.....
Producción/colmena/época.....	.....
Producción colmena año.....	.....
Cual es el destino de la producción.....	.....
Consumo familiar.....	.....
Venda en el mercado nacional.....	.....
Exportación.....	.....
Cuestiones para conocer la situación sanitaria	
Condiciones de almacenamiento de la miel.....	.....
Tiene agua potable.....	.....
Tratamientos sanitarios efectuados por el apicultor.....	.....
Hay alguna enfermedad identificada de las abejas.....	.....
Personal:	
Nivel de conocimiento del personal que trabaja en la explotación (tienen formación).....	.....
Tipo de material o equipamiento usado.....	.....
Tipo de control de calidad que hacen.....	.....
Tipos de análisis de control.....	.....
OBSERVACIONES.....	

#### 4.2.2. Obtención de las muestras

Se obtuvieron muestras con un número de unidades variable según la zona, de los principales productores y seleccionando los mismos al azar. Las muestras se recogieron al comienzo de la cosecha, a mediados o final de la época 2004/2005/2006.

Las muestras se envasaron en frascos de vidrio de 500 ml de capacidad, con tapa metálica, limpios y previamente esterilizados. Abajo se indican la numeración establecida de cada muestra según el orden de adquisición, localidad de producción, fecha de cosecha y grupo al que pertenece:

**Región A (A1- A53):** Manica (Sussudenga, Guro, Macossa y Tambarra)

**Region B (B1-B37):** Sofala (Nyamatanda, Gorongosa y Caia)

**Region C (C1-B57):** Inhambane (Mabote, Inharrime, Zavala y Vilanculos)

**Region D (D1-D42):** Maputo (Matutine, Boane, P.Libombos y Cidade)

Además de contestar la encuesta, se identificaban las muestras con los siguientes datos complementarios sobre el terreno:

- Fecha de cosecha, lugar de adquisición y nombre del apicultor.
- Ubicación de las colmenas.
- Plantas visitadas por las abejas.
- Tipo de producción/comercialización.
- Proceso de elaboración:

Sistema de extracción

Características higiénico-sanitarias

Tratamiento térmico (tiempo y temperatura)

Tiempo de maduración

En la selección de cada una de las muestras se procuró que se cumplieran los siguientes requisitos:

- Que fueran recogidas directamente de las explotaciones apícolas.
- Que se tratara de mieles frescas, no habiendo transcurrido nunca más de tres meses desde la fecha de recolección.

#### **4.2.3. Preparación de las muestras analíticas**

Las muestras se llevaron al laboratorio, desde el lugar de producción, en recipientes isotermos y herméticos, para su posterior análisis.

La preparación de la muestra se llevó a cabo de acuerdo con los Métodos Oficiales de Análisis para la miel (AOAC, 2000). Tras desechar la capa superficial, se homogeneizó con cuchara estéril y posteriormente se tomaron muestras suficientes para realizar los análisis microbiológicos, de composición y frescura.

La miel que se encontraba parcialmente cristalizada se agitó durante un tiempo, usando una espátula de tamaño adecuado a la muestra. Para determinar la humedad y composición en azúcares se licuó la porción de miel necesaria en un recipiente cerrado a una temperatura comprendida entre 25°C y 30° C. No se practicó ningún tipo de calentamiento para el resto de la miel para determinar otros análisis en especial el contenido de hidroximetilfural (HMF) y actividad diastásica.

Tampoco se practicó ningún tipo de limpieza a las mieles como recomienda (AOAC, 2000), una vez que esta se encontraban limpias.

#### **4.2.4. Análisis microbiológicos.**

Las muestras fueron procesadas siguiendo el método descrito por Pascual y Anderson (2000), así como la preparación de las diluciones decimales.

De cada muestra se pesaron asépticamente 10 gramos de miel en bolsas estériles y se añadió 90 ml de agua de peptona tamponada al 0,1% (Difco) a pH 7.2, esterilizada. Se homogeneizó la muestra con un homogenizador (Stomacher Lab-Blender 400) durante 2 minutos obteniendo así la dilución 1/10 y a partir de ésta se prepararon diluciones decimales progresivas.

Una vez obtenido el homogeneizado, después de la preparación de las diluciones pertinentes se realizó la siembra. Todos los análisis se hicieron por duplicado, siendo los resultados que se exponen en las tablas, las medias aritméticas de los mismos.

### 4.3. DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS

#### 4.3.1. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos

Para el recuento de los microorganismos aerobios mesófilos totales, se utilizó el método de recuento en placa, según el método descrito por Pascual y Anderson (2000).

Para ello, se utilizó el medio agar nutritivo *Plate Count Agar*, (Adsa-Micro), sembrando un mililitro de la muestra y de sus diluciones decimales en placas de Petri estériles, mediante homogeneización en masa. Una vez sólido el medio, se añadió una doble capa del Agar Blanco, incubando a  $31 \pm 1^\circ \text{C}$  durante 48 horas en condiciones de aerobiosis.

Los recuentos se efectuaron sobre la totalidad de las colonias, en aquellas placas que presentaron recuentos entre 30 y 300, calculando la media de los recuentos obtenidos en las tres placas y multiplicando por el inverso de la dilución correspondiente. El resultado se expresa como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g).

#### 4.3.2. Recuento de *Enterobacteriaceae*

Para el recuento de enterobacterias, se utilizó el medio Cristal Violeta, Rojo Neutro, Sales biliares, Lactosa (*Agar MacConkey*), siguiendo la técnica descrita por Pascual y Anderson (2000).

Para ello, se utilizó el medio *Agar Mac Conkey*, (Adsa-Micro), sembrando 0,1 mililitro, de la muestra y de sus diluciones decimales en placas de Petri estériles, siembra en superficie. Las placas se incubaron a  $37^\circ \text{C}$  durante 24-48 horas en condiciones de aerobiosis.

Los recuentos se efectuaron sobre las colonias que presentaban el crecimiento característico de las enterobacterias (colonias de color rojo-violáceo, rodeadas de un halo correspondiente a la precipitación de las sales biliares). En aquellas placas que presentaban entre 30 y 300 colonias, expresando el resultado como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g).



### 4.3.3. Recuento de Clostridios Sulfito-Reductores

Para el recuento de microorganismos anaerobios, sulfitos reductores, se utilizó la técnica recomendada por (Pascual y Anderson, 2000).

Se utilizó el medio *Agar-sulfito-polimixina-sulfadiazina* S.P.S. (Adsa-Micro). Se procedió a la siembra, de las diluciones seriadas por homogeneización en masa, en tubo conteniendo 20 ml del medio de cultivo previamente licuado. Una vez inoculados los tubos con un mililitro de la dilución correspondiente, y tras su homogeneización, se dejaron solidificar y se les adicionó una capa de parafina líquida esteril, con el fin de crear un ambiente de anaerobiosis y se incubó en estufa a 46° C durante 24-48 horas.

Después del período de incubación, se cuenta el número de colonias negras crecidas y se multiplica por el factor de dilución del tubo, con lo que se obtiene el recuento total de colonias de formas vegetativas y esporos de clostridios sulfito-reductores por gramo de muestra.

### 4.3.4. Recuento de Mohos y Levaduras

Para el recuento de mohos y levaduras se utilizó la técnica recomendada por (Pascual y Anderson, 2000).

En placas de agar *extracto de levadura-glucosa-oxitetraciclina Oxitetracycline Glucose Yeast Extract Agar*. (OGYE), previamente preparadas, fueron depositados en superficie 0,1 ml por diseminación con asa esteril sobre las placas, a partir de las diluciones decimales. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante cinco días, y transcurrido ese tiempo realizamos el recuento de mohos y levaduras.

Los recuentos se efectuaron sobre todas las colonias de las placas que presentaban entre 0 y 30 colonias, expresando el resultado como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g).

Los resultados de las determinaciones microbiológicas se expresan como logaritmo decimal de unidades formadoras de colonias por gramo de miel (log ufc/g).

#### 4.4. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE ESTABILIDAD

##### 4.4.1. pH

El valor de pH se determinó mediante lectura directa introduciendo el electrodo combinado del pH-metro *CRISON* de acuerdo con método para análisis de acidez en miel (Bogdanov, 2002; AOAC, 2003). Para ello se homogeneizan 10g de miel en 50 ml de agua destilada al 20 % (w/v). Antes de cada lectura se calibraba el aparato con las soluciones buffer de pH 7 y pH 4.

##### 4.4.2. Actividad del agua ( $a_w$ )

La actividad de agua fue medida, a temperatura constante de 25°C, mediante un analizador automático higrómetro, (THERMOCONSTANTER NOVASINA T4-2).

Se introduce una muestra de aproximadamente 5 g en una cápsula y se van realizando medidas a lo largo del tiempo, hasta llegar a un valor constante. El valor constante que marca el equipo es el valor de la actividad de agua.

##### **Procedimiento:**

En cápsula de plástico específica se introduce 5g de la muestra, sin sobrepasar nunca la mitad del volumen, se tapa y se deja a temperatura de 20° C en cámara termostatizada hasta que alcanza una temperatura próxima a la del higrómetro. Se introduce en la cámara de medida, para la determinación. La lectura digital de la  $a_w$  y temperatura en la pantalla de cristal líquido tuvo lugar, generalmente en unos cinco minutos, momento en el que el aparato emite una señal acústica. El tiempo necesario para obtener la lectura era aproximadamente de 2 horas.

##### 4.4.3. Conductividad eléctrica (CE)

La conductividad eléctrica se midió, según (Bogdanov, 2002; AOAC, 2003). Para ello se utilizó un Conductímetro *Testo* ® 240. Las determinaciones fueron realizadas por duplicado.

La determinación se basa en la medición de la resistencia eléctrica, siendo la conductividad (y) el valor recíproco de la resistividad.

Se pesan 20g de miel en agua desionizada y se trasvasan a un matraz aforado de 100 ml completando el volumen con agua desionizada.

Aproximadamente 75 ml de la solución se depositan en un vaso de precipitado, colocado en un baño de agua a  $20^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$  C. Con el resto de la solución se enjuagan cuidadosamente los electrodos de conductividad, inmediatamente, se sumergen los electrodos conectados al medidor de conductividad, en la solución y separados entre sí por una distancia de 1cm hasta que la temperatura se equilibra. La lectura del valor de la conductancia de la solución es en mS. Los resultados son expresados  $10^{-4} \text{S} \times \text{cm}^{-1}$

#### **4.4.4. Tipos de acidez: libre, láctónica y total**

La determinación de la acidez libre y total de la miel se realizó según Bogdanov, (2002) y AOAC (2003).

La acidez libre se evaluó por valoración potenciométrica con un álcali hasta pH 8,50 y la acidez láctónica mediante valoración por retroceso tras la adición de un exceso conocido de álcali hasta pH 8,30. La acidez total se calculó sumando la acidez libre y la láctónica. Este método se basa en que las lactonas presentes en la miel originan ácidos cuando esta se alcaliniza, constituyendo una reserva potencial de acidez.

#### **Procedimiento:**

En un vaso de precipitados se disuelven 10 gr de miel en 75 ml de agua destilada exenta de dióxido de carbono, determinando a continuación su pH. Se titula con la solución de hidróxido de sodio a 0,05 N hasta obtener un pH de 8,5. La valoración debe realizarse por goteo a una velocidad de 5 ml por minuto. Tan pronto alcanza dicho pH, se añaden 10 ml de la misma solución de hidróxido de sodio 0,05 N e inmediatamente se procede a una nueva titulación con ácido clorhídrico 0,05 N, a la misma velocidad, hasta alcanzar un pH de 8,3.

Los cálculos se realizan utilizando las siguientes fórmulas:

$$\text{Acidez libre (meq/kg)} = \frac{(V_b - V_o) \times N_b \times 1000}{P}$$

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

Acidez total = Acidez libre + Acidez láctica

**Siendo,**

$V_b$ : volumen en ml de base consumidos hasta alcanzar pH de 8,50.

$V_o$ : volumen en ml de base consumidos por 75 ml de agua destilada hasta alcanzar pH de 8,50.

$V_a$ : volumen en ml de ácido gastados en la valoración por retroceso hasta alcanzar pH 8,30

$N_b$ : normalidad de la base

$N_a$ : normalidad del ácido

P: peso, en gramos, de la muestra.

Los resultados son expresados en meq/kg.

#### 4.4.5. Color

Dado que la medida más exacta del color sólo puede lograrse por métodos objetivos como la evaluación espectrofotométrica, se utiliza este método, ya ensayado por varios investigadores (Huidobro, 1983; Ortíz 1990; Frías 1991; Mateo 1992; Anupama 2003; Balanza 2003). El espectro de transmisión de luz, obtenido por barrido entre 360 y 770 nm, midiendo la transmitancia de la muestra de miel colocada en una cubeta de caras paralelas de 1 cm de paso de luz, con intervalos de 5 nm, en un espectrofotómetro 1700 UV-VIS, con rango entre 200 y 1000 nm, doble haz, conectado a PC e impresor, con software SF170, provisto por el fabricante, el cual permite registrar los barridos en archivos ASCII que pueden luego ser transferidos a planillas de cálculo para su análisis.

Como se trata de que la cantidad de luz absorbida por la muestra se deba al color de la misma y no a otras causas que pueden interferir, la miel debe estar perfectamente limpia (miel

filtrada) y no deben quedar burbujas de aire al llenar las cubetas. Para ello, si la miel se encuentra cristalizada, debe calentarse suavemente a fin de licuarla, luego filtrar o bien dejar decantar de tal forma que el producto se presente perfectamente limpio, sin opalescencia ni partículas sólidas en suspensión.

A partir de los valores de transmitancia (%) que proporciona el barrido, se calculan los valores de transmitancia unitaria ( $\beta_\lambda$ ) de la muestra para cada intervalo de longitudes de onda.

Para la determinación de color se utilizó un equipo los Hunter Lab Color Scale (1996) cuyos valores del espacio de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y parámetros se calculan en base de las siguientes ecuaciones, a partir de los valores triestímulo obtenidos en..

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

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

$$b^* = 200$$

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

De igual modo, los valores de la pureza o croma ( $C_{ab}^*$ ), ángulo de tono ( $H_{ab}^*$ ) y saturación métrica ( $S_{ab}^*$ ) se calculan mediante las fórmulas:

$$C_{ab}^* = (a^2 + b^2)^{1/2}$$

$$H_{ab}^* = \arctg b^*/a^*$$

$$S_{ab}^* = C_{ab}^*/L^*$$

Además al tratarse de un espacio de color uniforme, la diferencia de color entre muestras se puede calcular aplicando la fórmula:

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}$$

## **4.5. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA**

### **4.5.1. Contenido en humedad**

La determinación del contenido en humedad se realizó por aplicación del método refractométrico basado en la medida del índice de refracción de la miel y cálculo de la humedad a 20° C mediante la Tabla de Chataway (1932), revisado por Wedmore (1955). De acuerdo con AOAC, (2000) y Bogdanov (2002).

El equipo utilizado es un Refratómetro tipo Abbe (Carl-Zeiss) con escala graduada en índice de refracción (1300-1,710, apreciación: 0,001) y en grados Brix (0- 100, apreciación: 0,5°Brix).

La muestra debe ser fluida y homogeneizada, sin cristales y temperatura de  $20 \pm 1^\circ$  C. La corrección de la temperatura se efectúa según las indicaciones adjuntas en el anexo de la tabla del contenido de humedad en función del índice de refracción, según el método AOAC. El contenido de humedad se expresa en g/100 g de miel.

### **4.5.2. Contenido en azúcares**

Para la determinación de los azúcares se empleó el test enzimático UV para la sacarosa, glucosa y fructosa en alimentos, de Boehringer –Mannheim (1995). El contenido en los tres azúcares se midió espectrofotométricamente por vía indirecta, determinando el incremento de nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato hidrogenado (NADPH) que se forma por la oxidación-reducción de la glucosa-6-fosfato y el nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato (NADP) en presencia de la enzima glucosa 6 fosfato deshidrogenasa.

Se prepararon diluciones de 1 gr de miel en 100 ml de agua destilada, y esta solución a su vez se diluyó en relación 1:10 para determinación de la glucosa y la fructosa, y al 1:3 para la de la sacarosa. Se empleó 0,1 ml de la dilución final para cada test.

#### 4.5.2.1. Glucosa y fructosa

La glucosa y fructosa presentes en la dilución son fosforiladas en presencia de la enzima hexoquinasa y de adenosina 5'-trifosfato (ATP), formándose adenosina 5'-difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato formada es oxidada por la nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato (NADP), originándose nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato hidrogenado (NADPH), en cantidad equivalente a la cantidad de D-glucosa. Este incremento de NADPH se mide por espectrofotometría a 340 nm.

Transcurrida la reacción, se convierte la fructosa-6-fosfato en glucosa-6-fosfato mediante la enzima fosfoglucosa-isomerasa y se repite de nuevo la reacción anterior formándose de nuevo NADPH. El contenido de fructosa será equivalente a la diferencia de concentración de la glucosa antes y después de la inversión enzimática.

Para los cálculos de la concentración de ambos azúcares, expresados en g por litro de solución prueba, se siguió la siguiente fórmula:

$$C_{\text{glucosa}} = \frac{5,441}{\xi} \times \Delta E_{\text{D-glucosa}} \times 100$$

$$C_{\text{fructosa}} = \frac{5,477}{\xi} \times \Delta E_{\text{D-fructosa}} \times 100$$

Siendo,

$C_{\text{glucosa}}$ : concentración de glucosa (g/l).

$C_{\text{fructosa}}$ : concentración de fructosa (g/l).

$\xi$ : coeficiente de extinción de NADPH a 340nm = 6,3 (1xmmol<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>).

$\Delta E_{\text{D-glucosa}}$ : coeficiente de extinción de la glucosa.

$\Delta E_{\text{D-fructosa}}$ : coeficiente de extinción de la fructosa.

#### 4.5.2.2. Sacarosa

Para su determinación se midió previamente la cantidad de D-glucosa, como en el apartado anterior. En la dilución de miel se hidroliza la sacarosa a D-glucosa y D-fructosa mediante la enzima  $\beta$ -fructosidasa a pH 4,6. A continuación se determina la concentración de D-glucosa

como en el apartado anterior, formándose de nuevo NADPH. El contenido en sacarosa se calcula de la diferencia de las concentraciones de D-glucosa antes y después de la inversión enzimática.

Para el cálculo de la concentración expresada en gr de sacarosa en 1 litro de muestra, se siguió la fórmula:

$$C_{\text{sacarosa}} = \frac{10,34}{\xi} \times \Delta E_{\text{sacarosa}}$$

Siendo,

$C_{\text{sacarosa}}$ : concentración de sacarosa (g/l).

$\xi$ : coeficiente de extinción de NADPH a 340nm = 6,3 (1xmmol<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>).

$\Delta E_{\text{sacarosa}}$ : coeficiente de extinción de la sacarosa.

#### 4.5.3. Cenizas

Las cenizas se obtuvieron tras incineración de la muestra en mufla y pesada del residuo hasta peso constante, según Bogdanov (2002) y AOAC (2003).

Se pesaron por duplicado y con precisión de 0,1 mg, de 5 a 10 g de muestra de miel en cápsulas crisol previamente calcinadas y taradas. Se calentó suavemente hasta carbonizar la muestra poniendole unas gotas de aceite de oliva para impedir la formación de espuma. Se depositó la muestra en la mufla a 550°C durante toda la noche, y al día siguiente se sacaba de la mufla y se introducía en un desecador, hasta que la diferencia entre dos pesadas consecutivas efectuadas a intervalos de 30 min fuera inferior a 1mg (cenizas sin residuos carbonosos).

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

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{(P_1 - P_2) \times 100}{P - P_2}$$

Donde:

P: Peso, en gramos del crisol con la muestra

P<sub>1</sub>: Peso, en gramos del crisol con las cenizas



P<sub>2</sub>: Peso, en gramos del crisol vacío

Los resultados son expresados en %.

#### 4.5.4. Sólidos Insolubles

La determinación de sólidos insolubles se realizó por el método AOAC (2000), y modificado por nosotros. Se basa en el aumentado peso que experimenta un crisol poroso después de filtrar por él una cantidad conocida de miel disuelta en agua ligeramente alcalinizada.

Para ello se pesaron 20 g de la muestra de miel con una aproximación de 10 miligramos, que no había sido limpiada previamente. Se disolvió con unos 50 mililitros de agua destilada, introduciendo en la disolución los electrodos de un pH-metro y se añadió una solución de NaOH 0,1 N agitando continuamente hasta alcanzar un pH comprendido entre 8 y 9.

En lugar de filtrar la disolución a través de un crisol filtrante, se realizó la filtración a través de un papel de filtro Whatman 541 endurecido sin cenizas. Este papel de filtro tiene el mismo tamaño de poro del crisol filtrante (10-40 µm). Previamente secado y tarado, conectado a un dispositivo de filtración al vacío, se trasvasó cuantitativamente todo el material sólido al papel de filtro y se lavó abundantemente con agua destilada calentada a 80°C. El papel de filtro con el residuo lavado se secó en una estufa de desecación durante 1 h a 135°C y después de enfriar en un desecador se pesó con aproximación de 0,1 miligramos.

Los resultados son expresados en % de sólidos insolubles en agua por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ sólidos insolubles en agua} = \frac{(P_1 - P_2) \times 100}{P}$$

Siendo:

P<sub>1</sub> = Peso del crisol, en gramos, con el residuo seco.

P<sub>2</sub> = Peso del crisol, en gramos, vacío.

P = Peso, en gramos, de miel.

Los resultados son expresados en %.

#### 4.5.5. Sólidos Totales

Los sólidos totales se determinaron a partir del valor del contenido de agua.

Sólidos Totales (%) = 100- Contenido de humedad %

Los resultados son expresados en %.

#### 4.6. FRESCURA DE LA MIEL

##### 4.6.1. Hidroximetil furfural (HMF)

Para la determinación de hidroximetilfurfural se utilizó el método AOAC (2000) y Bogdanov (2002) basado en el método de White (1979). Para ello se realizó un tratamiento de la muestra de miel con los reactivos de Carrez y posterior lectura de la absorbancia a 284 y 336 nm, utilizando un espectrofotómetro Metrolab 1700 UV-VIS de doble haz. Las determinaciones se realizaron por triplicado en todos los casos, usando como blanco la muestra tratada con una disolución de bisulfito sódico que destruye la absorbancia debida al hidroximetilfurfural (Frias y Hardisson, 1990).

##### **Procedimiento:**

Se disuelven 5 g de miel (que no haya sido calentada) en 25 ml de agua destilada. Se añaden 0,5 ml de solución Carrez I (15g de ferrocianuro de potasio trihidratado disuelto en 100 ml de agua destilada) y 0,5 ml de la solución Carrez II (30g de acetato de cinc dihidratado en 100 ml de agua destilada), enrasando con agua destilada el matraz aforado hasta 50 ml. Se filtra, se desechan los primeros 10 ml y se toma el resto para el análisis.

Se depositan 5ml del filtrado en tubos, a uno se añaden 5 ml de agua destilada (muestra) y al otro 5 ml de la solución de sulfito ácido de sodio al 0,2% (referencia). Si la absorbancia fuera superior a 0,6 se diluye la solución de la muestra con agua, y la de referencia en la misma proporción con sulfito ácido de sodio al 0,1%.

Se determina la absorbancia de la solución muestra frente a la de referencia a 284 y 336 nm. El contenido en hidroximetilfurfural, expresado en mg por 100g de miel, se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{HMF (mg/100g)} = \frac{(A_1 - A_2) \times f \times 5}{P}$$

Siendo,

$A_1$  = Absorbancia medida a 284 nm.

$A_2$  = Absorbancia medida a 336 nm.

P = Peso, en gramos, de la muestra

f = 14.97, factor para expresarlo en mg/100g.

Los resultados son expresados m/kg.

#### 4.6.2. Actividad diastásica

La determinación de la actividad diastasa se basó en el método de Schade et al (1958), modificado por White et al. (1959) y por Hardon (1961) y según la técnica espectrofotométrica especificada en AOAC (2000), utilizando un espectrofotómetro Metrolab 1700 UV-VIS de doble haz y un baño termostático (Vicking). Dicha técnica se basa en la velocidad de hidrólisis de una solución de almidón al 2% por las enzimas diastasas presentes en una solución amortiguada de miel.

##### Reactivos:

- Solución patrón de yodo: se disuelven 8,80 g de yodo en 50 ml de agua destilada que contienen 22,0 g de yoduro potásico, enrasando en un matraz de 1 litro.
- Solución de yodo 0,0007 N: en un matraz de 500 ml se depositan 5 ml de la solución patrón de yodo y 20g de yoduro potásico (KI), enrasando hasta 500 ml. Esta solución es estable como máximo 48 horas.
- Amortiguador de acetato pH 5,3 (1,59 N): se disuelven 87 gr de acetato de sodio trihidratado (NaOAc.3H<sub>2</sub>O) en 400 ml de agua destilada, se añaden 10,5 ml de ácido acético

glacial (HOAc) y se completa hasta 500 ml con agua destilada. Se ajusta el pH a 5,3 con acetato de sodio o ácido acético.

- Solución de cloruro de sodio 0,5 M: se disuelven 14,5 gr de cloruro de sodio (ClNa) en agua destilada hervida y se diluye hasta 500 ml.
- Solución de almidón 2%: se pesan 2 gr de almidón y se disuelven con 20 ml de agua destilada. Posteriormente se le añaden lentamente 60 ml de agua hirviendo, agitando constantemente. Se lleva a volumen de 100 ml con agua destilada.

### **Procedimiento:**

**Preparación del testigo sin amilasa:** en un tubo de ensayo especialmente diseñado y fabricado para esta prueba con forma de “Y” se vierten: 5 ml de la solución de almidón en un codo y 10 ml de agua destilada en el otro codo del tubo. Se mantiene en el baño maría a 40° C durante 15 minutos y posteriormente se mezclan ambos contenidos. Se toma 1 ml de esta disolución y se añade a una solución preparada anteriormente con 10 ml de la solución de yodo y 35 ml de agua destilada. Se hace una lectura en el espectrofotómetro a 650 nm. La absorbancia debe ser de 0,76 ( $\pm 0,02$ ). Si el valor encontrado es diferente al testigo, hay que aumentarle o disminuirle el volumen de agua según la absorción. El volumen definitivo de agua será el utilizado para la determinación de la actividad de las diastasas en la miel. El volumen de agua para las determinaciones de la actividad diastasa en las muestras es calculada cada día.

**Preparación de la muestra:** se disuelven 5 g de miel en 10 ml de agua destilada y se añaden 2,5 ml del tampón acetato. Una vez amortiguada la muestra, se añaden 1,5 ml de la solución de cloruro de sodio 0,5 M y se trasvasa a un matraz de 25 ml hasta enrase.

En un codo del tubo se depositan 5 ml de la solución de almidón y en el otro codo 10 ml de la solución de miel. Se sumerge en un baño maría a 40° C durante 15 minutos y después se mezclan ambas soluciones. A los 5 minutos tomamos 1 ml de esta solución y se disuelve en una solución constituida por 10 ml de la solución de yodo y el volumen de agua que se ha determinado en el ensayo con el testigo sin amilasa. Esta determinación espectrofotométrica

se deberá efectuar cada 5 minutos hasta que la absorbancia de la muestra se aproxime a un valor de 0,235.

Para el cálculo de la actividad diastásica se elaboró una recta patrón de la absorbancia para cada muestra en función del tiempo. Ajustando la recta, se determinará el tiempo en que la mezcla alcanzará la absorbancia de 0,235.

$$\text{Indice diastasas (ID)} = \frac{300}{T}$$

Siendo,

**T:** tiempo transcurrido en minutos.

**ID:** índice de diastasa en la escala Gothe (actividad de la diastasa en ml de solución de almidón al 1% hidrolizada por la enzima contenida en 1g de miel, en 1 hora a 40° C).

## 4.7. ANÁLISIS Y TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Se emplearon los paquetes estadísticos (SPSS, Inc., Chicago) y SAS/STAT, V. 6.06.

### 4.7.1. Prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov (K-S):

La prueba K-S se utilizó para comprobar si la distribución de muestras observada seguía una distribución normal teórica.

Esta prueba de normalidad se basa en comparar la distribución acumulada de los valores de la muestra con la distribución acumulada que se obtendría, en el supuesto que siguiera exactamente una ley normal de media  $\mu$  y variancia  $S^2$  (Domenech y Sarria, 1989).

También se aplicaron los Test de **CRAMER-VON MISES Y ANDERSON-DARLING** con el mismo objetivo de estudiar la distribución de las variables si son normales.

Las pruebas de normalidad se aplicaron a cada uno de las variables estudiadas como paso previo, antes de proceder a su comparación estadística.

### 4.7.2. Análisis de la Variancia

Si las distribuciones eran normales, se procedió a su estudio estadístico mediante el análisis de la variancia. Para aplicar este análisis es necesario que los datos cumplan las siguientes condiciones previas: Normalidad de las poblaciones a estudiar y las variancias de las poblaciones estudiadas sean iguales.

Se utilizó en primera línea el test **ANOVA** para contrastar si existen diferencias significativas entre las medias de las variables estudiadas de las diferentes regiones y ensayos. Se realizó la prueba F para el contraste de la igualdad de las medias y si p-valor  $<0,05$  significa que hay diferencias significativas. Después se aplicó el test **LEVENE** para estudiar se las variancias son iguales y el test **BARLETT** para estudiar se las varianzas son iguales en los distintos grupos.

Las pruebas Levene y Barlett sirven para mirar si las variancias son iguales pero la prueba Barlett es mejor utilizarla si los datos son normales.

#### **4.7.3. Prueba de Tukey para Comparaciones Múltiplas**

La prueba Tukey de comparación 2 a 2, es el test estadístico empleado después de un análisis múltiple de la variancia. En caso que ésta presente diferencias estadísticamente significativas y con el fin de conocer qué población de las estudiadas es la responsable de las diferencias observadas, se realiza esta prueba para observar entre qué par de muestras hay diferencias.

La idea es que si el intervalo de confianza incluye el 0, significa que no hay diferencias significativas (con un nivel de confianza del 95%). Si el intervalo de confianza no incluye el 0, hay diferencias significativas.

Se utilizó la prueba de Tukey, para observar que, con un nivel de confianza del 95% hay diferencias significativas de los valores de las variables por regiones o por ensayos.

#### **4.7.4. Analisis no Parametrico de la Variancia de Kruskal-Wallis**

Esta prueba es una generalización de la prueba U de Mann-Whitney para K grupos independientes, no exigiendo el supuesto de normalidad ni el de homogeneidad de variancias (Domenech y Riba, 1990). Esta prueba se aplicó para comparación estadística de las medianas.

## **4.8. ANALISIS MULTIVARIANTES**

Dentro de los métodos de análisis multivariantes que podrían ser utilizados para la diferenciación y/o clasificación de las muestras analizadas y observación del comportamiento de las muestras, se encuentran el análisis de factores, de componentes principales y el análisis de clústers.

### **4.8.1. Analisis de componentes principales**

El objetivo del análisis de componentes principales o análisis de factores es que dadas unas observaciones con  $p$  variables, se analiza si es posible representar adecuadamente esta información con un número menor de variables construidas como combinaciones lineales de las originales. La técnica de componentes principales es debida a Hotelling (1933), aunque sus orígenes se encuentran en los ajustes ortogonales por mínimos cuadrados introducidos por Pearson (1901). Su utilidad es doble:

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

Este método permite analizar datos en bruto o estandarizados, una matriz de correlación o una matriz de covarianza. El propósito de este análisis es reducir el número de dimensiones de tal manera que se puedan visualizar fácilmente las variables, representando un alto porcentaje del conjunto de datos. Todo este procedimiento se realiza a través del análisis de la variancia y distancias entre las muestras, reducir el número de variables de un conjunto mayor, que puedan ser utilizadas en diferentes análisis o crear un conjunto completamente nuevo con menor número de variables para reemplazar parcial o completamente el conjunto original de variables.



#### **4.8.2. Análisis de Conglomerados (CLUSTERS)**

El análisis de conglomerados (clusters) tiene por objeto agrupar elementos en grupos homogéneos en función de similitudes entre ellos. Normalmente se agrupan las observaciones, de tal manera que se acaban caracterizando los grupos a través de las variables. Estos métodos se conocen también con el nombre de métodos de clasificación automática. El análisis de conglomerados estudia tres tipos de problemas:

##### **a) Partición de los datos**

Disponemos de datos que sospechamos que son heterogéneos y se desea dividirlos en un número de grupos prefijado, de manera que:

- cada elemento pertenezca a uno, y solo a uno de los grupos.
- todo elemento quede clasificado
- cada grupo sea internamente homogéneo.

##### **b) Construcción de jerarquías**

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

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

### c) Clasificación de las variables

Las variables pueden clasificarse en grupos o estructurarse en jerarquías. Los métodos de partición utilizan la matriz de datos, pero los algoritmos jerárquicos usan la matriz de distancias entre los elementos. Para agrupar variables se parte de una matriz de correlación (en variables continuas).

En nuestro estudio hemos realizado la clasificación a través del análisis de conglomerados, que consiste en clasificación de las variables.

El **dendograma**, o árbol jerárquico, es una representación gráfica del resultado del proceso de agrupamiento en forma de árbol. En la parte inferior del gráfico se disponen de todas las muestras de mieles (observaciones).

La clasificación se realiza por medio de una relación de distancias, lo que sugiere que el valor del análisis de clústers se debe a la posibilidad de clasificar datos comparando las distancias entre muestras de mieles. Sin embargo, el uso de análisis de clústers se torna crecientemente complejo cuando se incluyen conjuntos de datos muy mezclados, es decir, con distancias cercanas.

Todas estas técnicas se han utilizado con mayor o menor éxito en varios estudios, aunque en muchos casos, con un número de variables más reducido (Lopez et al., 1996; Popek, 2002; Anupama et al., 2003; Balanza, 2003).







## **V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



## **V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En este capítulo se presentan los datos obtenidos en el trabajo, aplicándose un estudio estadístico sobre el resultado global de las muestras. Los resultados se presentan según los siguientes apartados:

1. Resultados de la encuesta sobre la producción y elaboración de la miel en las regiones de estudio.
2. Resultados sobre la ecología microbiana.
3. Resultados de los análisis físico-químico.
4. Correlaciones entre los distintos parámetros.

Estos análisis, se estudian por grupos de parámetros relacionados, entre los cuales se buscan también posibles correlaciones.

Las representaciones gráficas y tablas de resultados estadísticos se presentan en el apartado VII.

### **5.1. ENCUESTA**

#### **5.1.1. Colmenas**

La mayoría de los entrevistados emplean colmenas inmobilistas de madera, distribuidas de la siguiente manera: un 38% usan colmenas tradicionales (corteza de las árboles y paneles de barro) el 31% usan colmenas de transición (tronco de cocotero y KTBH), mientras el 31% restante utilizan colmenas modernas (tipo Langstroth).



### 5.1.2. Zonas apícolas

Se establecieron cuatro zonas apícolas según criterios geográficos y botánicos

**Región A: Manica** (Macossa, Guro, Tambara, Sussudenga): Las principales plantas melíferas de esta región son:

Chacate (*Guibourtia conjugata*), chanfuta (*Afzelia quanzensis*), Inharrame (*Ekebergia capensis*), Mpacassa (*Lonchorcarpus pacassa*), Momba (*Pterocarpus brenanii*) M'Fiti (*Combretum zeyre*), M'futi (*Brachystégia boehmii*), Massassa (*Brachystegia spiciformis*), Missanda (*Erythrophleum suaveolens*), Mucungo (*Acácia nigrescencis*), Umbila (*Pterocarpus angolensis*), Mutamba (*Guazuma ulmifolia*), Mussambere, Muadzambaco, Mussandze, Mukulongo, Nhacassadze, Pavua.

**Región B: Sofala** (Gorongosa y Nyamatanda) cuyas principales plantas melíferas son:

Ébano(*Diospyros mespiiiformis*), M'Furua (*Paralepistemon shirensis*), Mpupo(*Securidaca longipepedunculata*), Mpacassa (*Lonchorcarpus pacassa*), Momba (*Pterocarpus brenanii*) M'Fiti (*Combretum zeyre*), M'futi (*Brachystégia boehmii*), Massassa (*Brachystegia spiciformis*), Missanda (*Erythrophleum suaveolens*), Mucungo (*Acácia nigrescencis*), Umbila(*Pterocarpus angolensis*), Mbuti (*Entandophragma caudatum*), Mabala gombe (*Lantana camara*), Munhando (*Cholorophora excelsa*), M'baua(*Kaya nyassica*), Mutarara (*Lecaniodiscus flaxinifolii*), M'manga (*Mangifera indica*), Muhimbe (*Julberdina globiflora*), M'gosa(*Sterculia africana*), Mussunganhemba(*Pteleopsis myrtifolia*), Nsadzi (*Acácia robusta*), Nhantomole (*Diplorhynchus*), Pau preto (*Dalbergia melanoxylon*), Panga-panga (*Millettia stuhlmanii*), Tule (*Milicia excelsa*), Tschuruza (*Hiteropyx natalensis*), Tschototo (*Plyllanthus sp.*), Mpanda, Mussala, Mutchatchene, Mugoé, Mucarué, Mtadza, Mucodoni, Nhantchitcha, Ncurungué, Nhagombe, Tchizize, Tsacani. Cabe destacar la miel de Gorongosa por ser una región de flora única o reserva de origen botánico restringido y que se recomienda que sea protegida para el beneficio de los apicultores del distrito y de los consumidores que prefiran esta miel en detrimento de otras mieles.

**Region C: Inhambane** (Mabote, Inharrime y Zavala). Las plantas melíferas más importantes son:

Coqueiro (*Cocos nucifera*, Linn.), Canhoeiro(*Sclerocaya cafra* Sond.), Chacate (*Guibourtia conjugata*), Cajueiro (*Anacardium occidentale*), Eucalipto (*Eucalytus sp*), Inharrime (*Ekebergia capensis*), Imbondeiro (*Andasonia digitata*), Laranjeira (*Citrus sinensis*L.), Mafureira (*Trichilia emetica*), Pereira (*Pirus Communis*), Tagate(*Brachystegia boemii*), Mucungo (*Acácia nigrescencis*), Umbila (*Pterocarpus angolensis*), Chicucute, Impfilo, Inquizo, Jambueiro, Massaleira, Mangueira, Micurre, Mondzo, Nkaia, Nkonola, Nziva, Khukhure, Tambeira.

**Region D: Maputo** (Matutuine, Manjajane) cuyas plantas principales son:

Abacateiro (*Persea Americana*), Canhoeiro (*Sclerocaya cafra* Sond.), Girassol (*Helianthus annus*), Cajueiro (*Anacardium occidentale*), Eucalipto (*Eucalytus sp*), Inharrime (*Ekebergia capensis*), Imbondeiro (*Andasonia digitata*), Laranjeira (*Citrus sinensis L.*), Limoeiro(*Citrum limon L.*), Mafureira (*Trichilia emetica*), Pereira (*Pirus Communis*), Tagate(*Brachystegia boemii*), Mucungo (*Acácia nigrescencis*), Umbila (*Pterocarpus angolensis*), Chicucute, Impfilo, Inquizo, Jambueiro, Massaleira, Mangueira, Mondzo, Nkaia, Nkonola, Nziva, Tambeira.

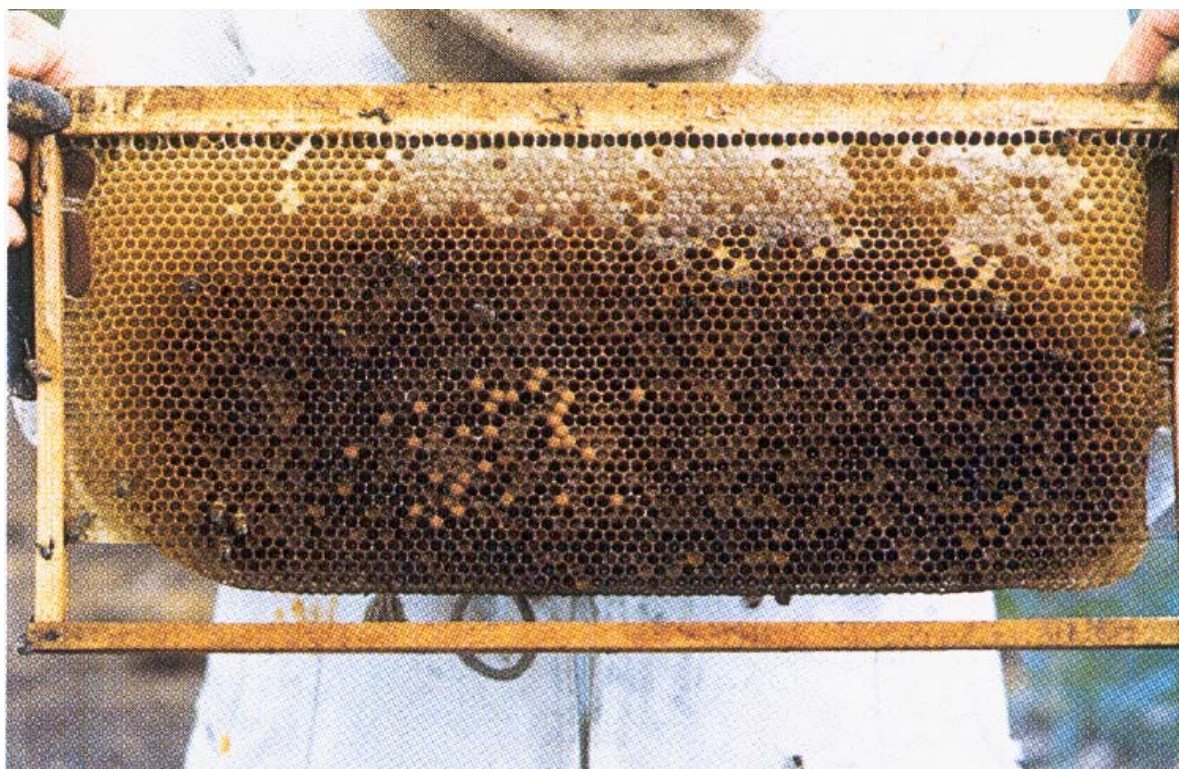
### 5.1.3. Método de extracción de la miel.

Para la obtención de la miel, los apicultores mozambiqueños seleccionan los cuadros de la colmena que presentan al menos dos tercios de su superficie operculada (**Figura 13**), eliminando las abejas del panal mediante un ahumador y cepillo. A continuación en un lugar destinado a la extracción de la miel, se elimina la capa de cera que cubre el panal con un cuchillo desoperculador, procurando no dañar el panal para evitar que éste se rompa durante el proceso posterior. Los panales así desoperculados, se colocan en **la prensa o centrífuga (Figura 14)**, donde la miel es proyectada hacia las paredes del extractor, escurriéndose hacia el fondo de donde es recogida y depositada en el decantador.

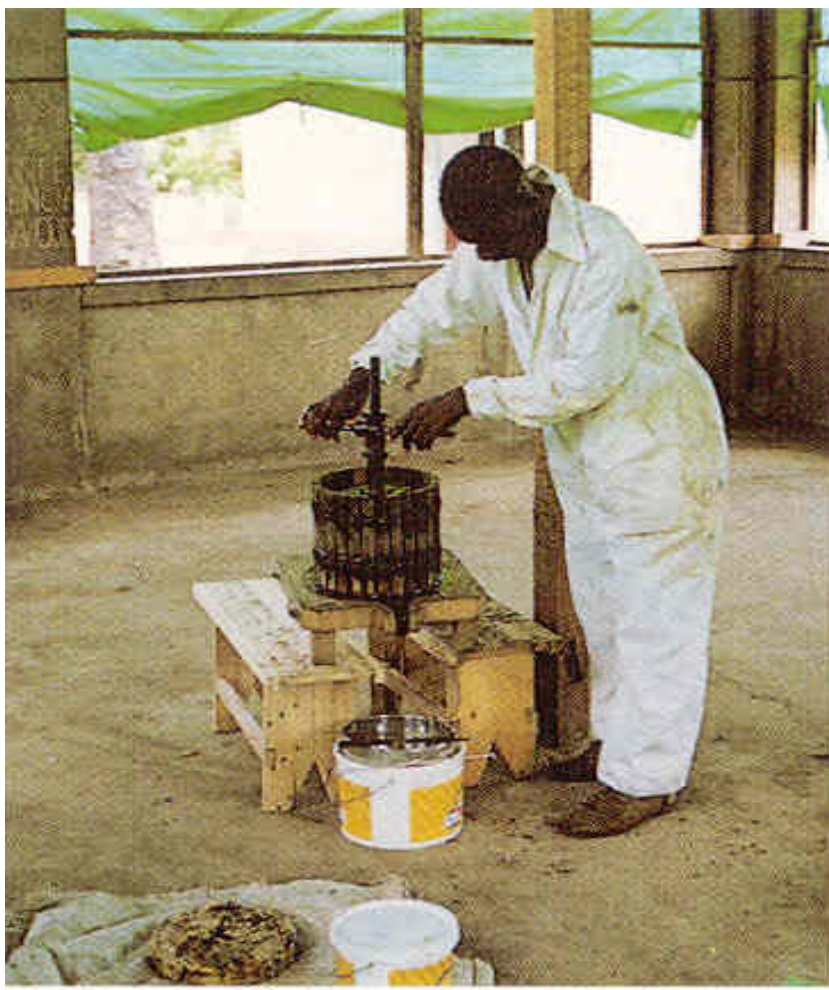
Para eliminar las impurezas presentes, como trozos de cera y restos de abejas, la miel es filtrada (**Figura 15**), antes de pasarla a los maduradores, mediante un tamiz de malla gruesa.

Una vez en el madurador se produce la decantación del resto de las impurezas, que según su naturaleza y peso específico se estratifican en la parte superior del mismo. Después de un período de dos a siete días y tras retirar la capa de la superficie, se envasa generalmente en frascos de vidrio (**Figura 16**).

A pesar de ser el método más usado en Mozambique, aún existen familias en el centro del país que siguen **extrayendo la miel mediante presnsado a mano**. Este método artesanal consiste en colocar los panales de miel operculada y sin larvas sobre una malla que se va retorciendo a fin de exprimir y dejar escurrir la miel que contienen para recogerla en un recipiente. Este proceso dura de 2 a 3 semanas y los restos de cera y miel que quedan en la malla son usados posteriormente para alimentar a las abejas.



**Figura 13.** Cuadro Operculado



**Figura 14.** Prensado de Panales





**Figura 15.** Centrifugación de Panales



**Figura 16.** Envasado de Miel

La recolección de miel se hace dos veces al año, generalmente a principios de invierno y a finales de verano, dependiendo de la zona y del clima.

**Tabla 4.** Características del sistema de obtención de la miel

Regiones	Apicultores <sup>1</sup>	Tipo Extracción			Agua	
		Mano	Prensa	Centrifuga	C/T	R/L
A- Manica	45(2,7)	18(40)	27(60)	-	15(33)	-
B- Sofala	60(4,9)	15(25)	45(75)	-	45(75)	-
C- Inhambane	35(5)	-	20(57)	15(43)	35(100)	30(67)
D- Maputo	20(5)	-	5(25)	15(75)	20(100)	15(25)
Total	160(4)	33(21)	97(61)	19	115(72)	45(28)

<sup>1</sup> Entrevistados: número, porcentaje; CT- Canalizada/ tratada; R/L – Río o lago

En **Manica** para la extracción de miel el 60% usan la prensa de madera y el resto es manual. Algunos grupos de interés y asociaciones han recibido formación básica sobre la construcción de colmenas mejoradas y la recolección de la miel. Hay que destacar que el 67% de los apicultores tienen como fuente de agua el río y lago, solamente el 33% disponen agua canalizada y/o tratada (Tabla 4). El período de la cosecha varía de marzo a mayo y de octubre a diciembre.

Los apicultores en **Sofala** para la extracción de la miel un 75% usan la prensa de madera y el resto es mediante prensado a mano. Como fuente de agua el 75% usan agua tratada y/o canalizada y el 25% agua de río o lago. El período de la cosecha varía de febrero hasta abril en una época y de octubre hasta diciembre en la otra época.

En **Inhambane** para la extracción de miel 57% usan prensa de madera y 43% centrifugación. Como fuente de agua el 100% de los entrevistados tienen agua canalizada o tratada. El período de la cosecha de la miel varía de enero a marzo y de octubre a diciembre.

Los apicultores de **Maputo**, para la extracción de miel un 75% usan extracción mediante centrifugación y el resto utilizan prensa de madera. Como fuente de agua usan la canalizada o

tratada (100%). El período de la cosecha de la miel varía de enero a marzo y de octubre a diciembre.

Piana et al (1989) y Serrano et al (1994) destacan la importancia de la época y momento en que se realiza la recolección como determinante para la obtención de miel de calidad y garantías de conservación. En este sentido los apicultores de Mozambique hacen la recolección en las épocas y momentos más apropiados.

En lo referente a las características de la higiene personal y de las instalaciones, los resultados del estudio se exponen en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Características higiénico-sanitarias del sistema de explotación de la miel:

Características	Regiones			
	Manica	Sofala	Inhambane	Maputo
Almacenamiento	Baldes*	Baldes*	Contenedores**	Contenedores**
Higiene personal	Mínima <sup>3</sup>	Mínima <sup>4</sup>	Observada	Observada
Control de calidad	Mínimo <sup>1</sup>	Mínimo <sup>1</sup>	Alguno <sup>2</sup>	Alguno <sup>2</sup>
Análisis Rutina	Humedad	Humedad	Humedad	Humedad

<sup>1</sup> Nociones básicas de higiene; <sup>2</sup> Inspección; <sup>3</sup> (Lavado de manos sin vestimenta propia de trabajo);

<sup>4</sup> (Lavado de manos algunos con vestimenta propia de trabajo); \* Baldes plasticos 20 a 50 litros

\*\*Contenedores inoxidable 200 litros.

Sobre los resultados anteriores se puede observar que los apicultores de las regiones de Manica y Sofala son productores familiares de pequeña producción. En cambio Maputo e Inhambane son las dos regiones donde los apicultores tienen conocimiento de higiene y realizan algún control de calidad. Según Bryan (1992) y Codex Alimentarius (1997), hay que dedicar más atención a análisis de los peligros y evaluación de riesgos así como identificación de puntos de control crítico, de manera especial en pequeñas industrias o explotaciones que no se prestan fácilmente a operaciones complejas de vigilancia. En la extracción de la miel los puntos de control críticos que deben fijarse son la manipulación de los panales y de la miel obtenida, de manera que se elimine el riesgo de fermentación de la miel y asegurar su calidad higiénico-sanitaria y comercial.

#### 5.1.4. Producción y comercialización de la miel

La producción de miel es aproximadamente de 5 a 10 kg/colmena/año, con colmenas tradicionales, mientras que la producción usando colmenas modernas es de 20 kg/colmena/año.

La mayor parte de las mieles se comercializa en la zona de producción por el propio apicultor, en tiendas locales, mientras que una minoría se destina a los hipermercados envasada en frascos de vidrio de distinto volumen, predominando los recipientes de medio litro. Generalmente, sólo se etiquetan las mieles destinadas a supermercados e hipermercados.

## 5.2. ECOLOGIA MICROBIANA

### 5.2.1. Recuentos de Aerobios Mesófilos

Los resultados obtenidos del recuento de microorganismos aerobios mesófilos se muestran en la Tabla 6

**Tabla 6.** Aerobios mesófilos de la miel de las diferentes regiones, en (log ufc/g)

Region	N	Valor medio	Desviación estándar	Rango	Coefficiente de variación
A- Manica	53	2,79	0,70	1,00 – 4,04	25,14
B- Sofala	37	2,38	0,46	1,15 – 3,92	19,45
C- Inhambane	57	2,37	0,69	1,00 – 3,27	29,51
D- Maputo	42	2,19	0,59	1,00 – 3,27	27,35
Total	189	2,45	0,67	1,00 – 4,04	27,43

N: numero de muestras

Los resultados obtenidos muestran que los niveles de contaminación son similares en las 4 regiones y con mayor variabilidad en Manica. El 95,23% del total de muestras analizadas se detectaron aerobios mesófilos  $\geq 1$  log ufc/g. En Manica se observó que 4 de las muestras estudiadas presentaban un número de aerobios mesófilos superior al  $10^4$ , valor referenciado



por Pascual y Calderon (2000), como límite de tolerancia para un alimento como la miel. Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas entre las medias de las cuatro regiones ( $p < .0001$ ) y que los valores de aerobios mesófilos de Manica son significativamente más elevados que los valores del resto de las regiones. (Tabla VII- 1 apartado VII)

Estos resultados pueden estar relacionados con los sistemas de explotación de la miel en Manica donde el 100% de los apicultores usa colmenas tradicionales y un 40% para extracción de la miel usa prensado a mano, lo que puede ser una fuente de contaminación por manipulación. Por otro lado un 67% el agua utilizada es de río o lago.

Los resultados estadísticos muestran que hay diferencias significativas entre las medias de las cuatro épocas ( $p < .0001$ ). Estos resultados se pueden relacionar con una posible variabilidad climática en el año 2004 pues en la misma época un año después, los resultados fueron distintos. Además la segunda época de cosecha de miel tiene lugar de octubre a diciembre periodo en el que empieza la estación lluviosa con una precipitación medio anual  $> 2000$  mm, lo que puede incidir de forma determinante en estos resultados.

Los recuentos de aerobios mesófilos en las mieles puede variar de 0 a 1000 microorganismos por gramo dependiendo de la frescura de la miel, época de recogida y técnicas utilizadas (Snowdon y Cliver, 1996). Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Sanz et al., (1995) en mieles de Norte de España; Butta et al., (1983) en mieles italianas y López (1998) en mieles de Gran Canaria. Iurlina y Fritz (2003) en mieles Argentinas encontraron crecimiento en todas las muestras de su estudio pero con valores inferiores. La baja contaminación por microorganismos aerobios mesófilos es indicativo de una adecuada calidad microbiológica de la miel, aunque no existe relación con la posible presencia de gérmenes patógenos (Pascual, 1992).

### 5.2.2. Recuentos de mohos y levaduras

Los resultados obtenidos del recuento de mohos y levaduras se muestran en la Tabla 7

**Tabla 7.** Mohos y levaduras de la de miel de las diferentes regiones, en (log/ufc)

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	2,47	0,82	< 2,00 - 4,49	33,29
B- Sofala	37	2,59	0,95	< 2,00 - 4,65	36,46
C- Inhambane	57	2,21	0,77	< 2,00 - 3,82	34,97
D- Maputo	42	2,85	0,85	< 2,00 - 4,63	29,78
Total	189	2,49	0,87	< 2,00 - 4,65	34,62

N: numero de muestras

Los valores medios de recuentos de mohos y levaduras de la miel de las diferentes regiones son similares pero con mayor variabilidad en Sofala y Maputo.

En el 85,18% del total de muestras de las 4 regiones se detectaron recuentos  $\geq 2$  log ufc/g de mohos y levaduras. En 95 de las muestras estudiadas (50,26%) presentan un valor superior a 100 ufc/g que es el establecido por Pascual y Calderon (2000) como de riesgo para la fermentación. Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas entre las medias de las cuatro regiones ( $p= 0,0024 < 0,05$ ) y que los valores de mohos y levaduras de Maputo son significativamente superiores que los valores a Inhambane. (Tabla VII-2 apartado VII).

En cuanto a los resultados por épocas en la segunda época del año 2004 hay mayor variabilidad y en cambio en la primera época de 2006 presenta valores en general más elevados que en el resto. Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas entre las medias de los cuatro ensayos ( $p < .0001$ ).

Estos resultados contrastan con los sistemas de explotación de la miel en Maputo pues un 25% de los apicultores usan colmenas de transición y el 75% usa colmenas modernas. Para la extracción de la miel 75% es mediante la centrifugación y 25% el prensado de madera, otro lado el 100% usa como fuente del agua canalizada o tratada.

Teniendo en cuenta las condiciones de explotación estos resultados podrían estar relacionados con el clima ya que en Maputo predomina el clima subtropical húmedo y podría favorecer al crecimiento de mohos y levaduras. Por otro lado teniendo en cuenta las épocas del año se nota que en la primera época de 2006. El periodo de cosecha de la miel de la primera época en Maputo varía de enero a marzo período que coincide con la estación lluviosa de octubre hasta abril con una precipitación media anual de 600 a 1000 mm. El hecho de mucha humedad puede favorecer al crecimiento de mohos y levaduras.

Los resultados elevados de mohos y levaduras en Sofala pueden estar relacionados con los sistemas de extracción, ya que para ello el 75% usa la prensa de madera y el resto es mediante prensado a mano. El periodo de cosecha de miel varía de febrero hasta abril dentro de la época lluviosa, por lo que la elevada humedad medioambiental también puede influir negativamente.

A pesar de los bajos valores característicos de pH y actividad de agua de la miel, los mohos y levaduras, al contrario que la mayor parte de los microorganismos, pueden desarrollarse utilizando los azúcares presentes como fuente de energía (Mossel et al., 2003). El deterioro que genera en este alimento se transforma en la fermentación por crecimiento de levaduras osmófilas. Los recuentos de mohos y levaduras en los diferentes grupos de mieles del presente estudio en los que hubo crecimiento, se encuentran en la (Tabla 7).

Comparativamente a otras investigaciones, nuestros valores son superiores a los observados por Butta et al. (1983); Consentino et al. (1994), Sanz et al., (1995) y López (1998). Rall et al. (2003) encontraron un 64% de incidencia de mohos y levaduras y un 25% de las muestras superó el límite establecido por la legislación brasileña. Iurlina y Fritz (2003) obtuvieron 57% de incidencia en mieles de Argentina pero no superaron los límites permitidos por su legislación, mientras Finola et al. (2007) en 23 muestras de miel también de este país encontraron menos de 10 CFU/g.

### **5.2.3. Recuentos de *Enterobacteriaceae***

En ninguna de las muestras analizadas se detectó la presencia de enterobacterias. De acuerdo con Sanz et al. (1995), estos valores son reflejo de una adecuada manipulación durante la extracción y envasado de la miel.

### **5.2.4. Recuentos de *Clostridium* Sulfito-Reductores**

En ninguna de las muestras analizadas se detectó la presencia de clostridios sulfito-reductores. Este resultado se justifica por la baja actividad de agua y pH de las muestras que no permitirían el desarrollo de *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinium* en caso de haber esporas (ICMSF, 1980; Board, 1988; Jay, 1994, ICMSF, 2001).

Los resultados obtenidos de los grupos microbianos estudiados, presentan diferencias estadísticamente significativas en los cuatro grupos de miel estudiados.

### 5.3. ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICOS

#### 5.3.1. CONTENIDO DE AGUA Y PARÁMETROS RELACIONADOS

##### 5.3.1.1. Humedad

Los resultados obtenidos del contenido de humedad se muestran en la (Tabla 8)

**Tabla 8.** Humedad de la de la de miel de las diferentes regiones, en % (m/m).

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	18,03	0,59	16,60 -18,90	3,31
B- Sofala	37	17,53	1,45	15,30 -19,65	8,27
C- Inhambane	57	18,55	0,68	17,05 -19,90	3,71
D- Maputo	42	18,62	1,57	17,20 -21,65	8,44
Total	189	18,22	1,16	15,30 -21,65	6,38

N: numero de muestras

Los resultados de los valores medios de humedad de la miel muestran que son similares en las 4 regiones y con mayor variabilidad en Maputo que presentó valores superiores al resto. Del total de muestras 88,36% presentaron valores superiores al 17,1% de humedad, considerado por varios autores como límite para una miel de buena calidad (Belitz y Grosch, 1997) y un 5,29% de las muestras superó el 20% establecido como límite máximo general en la Norma de calidad (Anónimo, 2003) en conformidad con el Codex Alimentarius. Sin embargo ninguna de las muestras superó el 23% límite establecido para mieles de brezo *Calluna*, o para uso industrial.

Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas entre las medias de las cuatro regiones ( $p < .0001$ ) y los valores de humedad de Maputo son significativamente superiores de los valores de (Manica y Sofala) y los de Inhambane son significativamente superiores que los valores de humedad de Sofala. (Tabla VII-3 apartado VII).

En cuanto a los resultados por épocas, en la primera época de 2005 se dieron valores más elevados que en el resto. Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas de la variable humedad entre las medias de los cuatro ensayos, ( $p < .0001$ ). Estos resultados pueden estar relacionados con el clima de las diferentes regiones y variabilidad de las épocas así como por los distintos orígenes florales.

En general los valores obtenidos indican una madurez y momento de extracción de la miel adecuados en especial por tratarse de mieles de regiones tropicales como Mozambique, donde predomina el clima subtropical húmedo. Cabe destacar que estas mieles no presentaron alteraciones ni se detectaron signos de fermentación a lo largo de todo el período del estudio.

El contenido en agua de la miel es un factor determinante de su calidad que influye en la viscosidad, peso específico y sabor, condicionando la palatabilidad y sabor. Es un parámetro importante en la determinación de la vida útil del producto (Snowdon y Cliver, 1996; Bogdanov et al., 2004). Cuando la miel está en torno al 18% de agua, la cristalización hace que aumente el contenido de agua de la fase líquida y por tanto la  $a_w$ , que puede alcanzar fácilmente un nivel en el que puede ocurrir la fermentación por levaduras osmófilas (ICMSF, 2001; Tosi et al., 2004).

Los valores medios de la humedad (Tabla 8) son similares a los encontrados por distintos autores sobre mieles españolas de diferentes orígenes geográficos y botánicos (Sanz y Triguero, 1970; Serra y Cañas, 1988; Pérez- Arquillué et al., 1990a; Serra y Ventura, 1993; Salinas et al., 1994a; Serra y Ventura, 1995; Sanz et al., 1995; López et al., 1996,; Sanjuán et al., 1997,; López, 1998; Cavia et al., 2002). Y similares a otros estudios publicados sobre mieles extranjeras: McGregor (1979), en mieles de Estados Unidos; Swallow y Low (1990), en mieles canadienses; Sabatini (1991), en mieles italianas; da Azeredo et al. (2003) y Downey et al. (2005) en mieles de Irlanda; Otros autores encontraron valores superiores como Anupama et al. (2003) en mieles indias; Iurlina y Fritz (2003) en mieles Argentinas encontraron valores entre 16,8 y 21,4 % en cambio en este mismo país Finola et al. (2007) encontraron valores entre 16 y 23,4%.

Otros autores encontraron valores medios inferiores a los nuestros como Serra et al. (1987); Riobos (1988)); Ortiz (1988) en mieles de La Alcarria; Serra (1988a); Gómez et al. (1990) en mieles españolas; Sancho et al. (1991b); Martínez et al. (1993); Sanz et al. (1994);

Pérez-Arquillué et al. (1994); Balanza (2003) en mieles de Argentinas; Soria et al. (2004); Gómez-Díaz et al. (2006); Kenjerić et al. (2007) en mieles *Robinia* de Croatia; Acquarone et al. (2007) en mieles Argentinas y Ouchemoukh et al. (2007) en mieles de Algeria.

### 5.3.1.2 Actividad de agua ( $A_w$ )

Los resultados obtenidos de la actividad de agua se muestran en la tablas 9

**Tabla 9.** Actividad de agua ( $a_w$ ) de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	0,577	0,0169	0,511 – 0,599	2,93
B- Sofala	37	0,569	0,0239	0,534 – 0,621	4,21
C- Inhambane	57	0,600	0,0246	0,542 – 0,648	4,11
D- Maputo	42	0,568	0,0271	0,538 – 0,617	4,78
Total	189	0,580	0,0266	0,511 – 0,648	4,59

N: numero de muestras

Los resultados de la actividad de agua de la miel muestran que los valores son similares en las 4 regiones y con mayor variabilidad en Inhambane que presentó valores superiores al resto. Del total de muestras el 19,05% se detectaron valores superiores al 0,600 considerado por varios autores como límite para miel de buena calidad (Belitz y Grosch, 1997) y no superó a 0,700 referido como límite en general (Mossel et al., 2003).

Cabe señalar que Manica presentó menor variabilidad que el resto de las 4 regiones y fue la región que presentó un valor mínimo de actividad de agua inferior al resto, lo que puede ser una indicación de que la mayor contaminación por aerobios mesófilos verificada en estas mieles puede ser por manipulación.

Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas entre las medias ( $p < .0001$ ) y que los valores de actividad de agua de Inhambane son significativamente superiores a los del resto de las otras regiones. (Tabla VII-4 apartado VII).

En la primera y segunda épocas de 2005 los valores son más elevados y la media de la primera época es superior al resto. Los resultados estadísticos muestran que hay diferencias significativas entre las medias de la actividad de agua de los cuatro ensayos ( $p < .0001$ ).

Estos resultados pueden ser una característica de las mieles de Inhambane en que los niveles de actividad de agua superiores a otras regiones están dentro de los parámetros considerados normales para este producto. Sin embargo hay que señalar que Leveau y Bouix (1979) refieren el crecimiento de una cepa *Z. bailii* aislada en la miel en  $a_w$  0,65. Zamora y Cherife (2005) encontraron en mieles que los límites más bajos para el crecimiento de levaduras osmotolerantes eran de  $a_w = 0,61/0,62$ .

Los resultados medios obtenidos de la actividad de agua indicados en la (Tabla 9) se encuentran dentro de los márgenes considerados como normales para este tipo de alimento (Gómez et al., 1990); siendo similares a los obtenidos por Sanz et al. (1995) en mieles de Cantabria; Millán et al. (1995) y Estupiñán et al. (1995) ambos en mieles de la isla de Gran Canaria; Sanjuán et al. (1997) en mieles de la isla de La Palma; López (1998) en mieles de Gran Canaria; Balanza (2003) en mieles de Argentina, pero fueron ligeramente superiores a los observados por Rüegg y Blanc (1981) en mieles Suizas; Alcalá y Gómez (1990) y Gómez et al. (1990) en mieles españolas de distinta procedencia; Acquarone et al. (2007) en mieles de Argentina.

En general en función de los valores de pH y actividad de agua observados, las mieles analizadas se considerarían como productos seguros y no percederos.



### 5.3.2. AZÚCARES Y PARÁMETROS RELACIONADOS

#### 5.3.2.1. Azúcares Totales

Los resultados obtenidos de azúcares totales se muestran en la (Tablas 10)

**Tabla 10.** Azúcares totales (métodos químicos), en % (m/m) de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	71,31	3,05	63,96 - 76,00	4,28
B- Sofala	37	70,46	6,85	53,23 - 78,65	9,72
C- Inhambane	57	70,39	3,20	63,82 - 77,54	4,55
D- Maputo	42	71,92	3,65	63,42 - 79,52	5,07
Total	189	71,00	4,23	53,23 - 79,52	5,96

N: numero de muestras

Los resultados de azúcares totales de la miel muestran que los valores son similares en las 4 regiones y con mayor variabilidad en Sofala que en el resto. Los resultados estadísticos muestran que los valores de azúcares totales no presentan diferencias significativas entre las regiones ( $p > 0,05$ ). (Tabla VII- 5 apartado VII).

#### 5.3.2.2. Contenido de Fructosa, Glucosa y Sacarosa

Los resultados obtenidos de los contenidos de Fructosa, Glucosa y Sacarosa se muestran en las (Tablas 11, 12 y 13).

**Tabla 11.** Contenido de Fructosa en % (m/m) de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	38,64	3,48	32,38 - 50,81	9,02
B- Sofala	37	37,01	3,01	28,99 - 40,38	8,13
C- Inhambane	57	38,75	3,25	30,81 - 43,33	8,39
D- Maputo	42	39,21	1,99	34,55 - 45,07	5,08
Total	189	38,48	3,11	28,99 - 50,81	8,08

N: numero de muestras

Los resultados de las medias de fructosa de la miel de las diferentes regiones muestran que los valores son similares con pocas diferencias y con mayor variabilidad en Manica que en el resto y Sofala es la que presenta valores mínimos. Del total de las muestras el 2,65% presentaron valores superiores a 44,3% señalados como valor límite para mieles de flores por (Belitz y Grosch, 1997). Estos resultados fueron similares a los encontrados por Costa et al. (1999) para mieles de diferentes tipos florales brasileñas incluyendo mieles monoflorales de *Eucaliptus sp.*, *Citrus sp.* y otras mieles multiflores.

Los resultados estadísticos indican diferencias significativas entre las medias de las cuatro regiones ( $p < 0,0103 < 0,05$ ) y los valores de la fructosa en Sofala son significativamente inferiores que los valores de Maputo y Inhambane. (Tabla VII-6 apartado VII).

En la segunda época de 2004 los valores de fructosa son más elevados y la media es superior que en el resto. Según los resultados estadísticos hay diferencias significativas entre las medias de fructosa de los cuatro ensayos ( $p < .0001$ ).

**Tabla 12.** Contenido de Glucosa en % (m/m) de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	29,21	4,65	18,26 - 36,92	15,91
B- Sofala	37	29,78	3,91	20,64 - 34,71	13,12
C- Inhambane	57	28,12	3,75	20,55 - 36,18	13,32
D- Maputo	42	29,15	2,96	22,02 - 35,45	10,16
Total	189	28,98	3,92	18,26 - 36,92	13,52

N: numero de muestras

Los resultados de las medias de glucosa de la miel muestran que los valores son similares con pocas diferencias entre las 4 regiones y con mayor variabilidad en Manica que en el resto. Los resultados estadísticos muestran que no hay diferencias significativas entre los valores de glucosa de las diferentes regiones ( $p > 0,05$ ). (Tabla VII- 6 apartado VII).

En cuanto a posibles diferencias por épocas, se observó que en la primera época de 2005 los valores de glucosa eran más elevados y la media superior que en el resto. Hay diferencias significativas entre las medias de glucosa de los cuatro ensayos ( $p < .0001$ ). Estos resultados están dentro de los parámetros normales y varían de acuerdo con el origen botánico.

**Tabla 13.** Contenido de Sacarosa en % (m/m) de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	3,45	0,53	2,14 - 4,36	15,39
B- Sofala	37	3,66	0,54	2,56 - 4,49	14,83
C- Inhambane	57	3,53	0,51	2,62 - 4,89	14,38
D- Maputo	42	3,56	0,38	2,74 - 4,42	10,88
Total	189	3,54	0,49	2,14 - 4,89	14,10

N: número de muestras

Los resultados de las medias de la sacarosa de la miel muestran que los valores son similares con pocas diferencias entre las 4 regiones y con mayor variabilidad en Manica que en el resto. Todas muestras analizadas presentaron concentraciones de sacarosa inferiores al 5 % exigido por la norma de calidad (Anónimo, 2003) y Codex Alimentarius para mieles de flores. Para algunos tipos de mieles como de espliego, acacia, mielada y sus mezclas se admite valores hasta el 10 %. En nuestro estudio no hay diferencias significativas entre los valores de la sacarosa según las diferentes regiones ( $p > 0,05$ ). (Tabla VII-6 apartado VII).

En cuanto a los resultados por recogida de muestras se observó que en la primera época de 2005 los valores son más elevados y la media es superior que en el resto. Según los resultados estadísticos hay diferencias significativas entre las medias de sacarosa de los cuatro ensayos ( $p < .0001$ ).

En general el contenido de los tres principales azúcares presentes en la miel cuyos valores están dentro de los parámetros normales de mieles de flores, las variabilidades pueden estar asociadas al néctar de las plantas de las diferentes regiones y épocas que puede variar de 5% hasta 80% (ICMSF, 2001).

Los resultados medios de **fructosa** obtenidos en nuestro estudio (Tabla 11) son similares a los señalados en mieles españolas por Sanz y Triguero (1970); Huidobro y Simal (1984a); Gómez et al. (1990); Juan et al. (1992); Serra y Ventura (1993); Frías et al. (1993); Martínez et al. (1993); Pérez-Arquillué et al. (1994); Sanz et al. (1994); Salinas et al. (1994a); López (1998); Cavia et al. (2002); Soria et al. (2004). También son semejantes a los obtenidos en mieles extranjeras por White et al. (1962) en mieles de los Estados Unidos; McGregor (1979); Swallow y Low (1990); Krauze (1991) en mieles de Polonia; y por Tuberoso et al. (1994) en mieles italianas. Asimismo, se trata de concentraciones superiores a las descritas por Mostafa et al. (1982), en mieles de Libia; Serra et al. (1987); Serra y Ventura (1995); Mateo et al. (1997); en mieles portuguesas Mendes et al. (1998); Sancho et al. (1999). Y inferiores a las encontradas por Serra y Cañas (1987); Sancho et al. (1991b); Salinas et al. (1994a); Hişil y Bağdatlioğlu (1994) en mieles de flores y mielada de India; Finola et al. (2007) en mieles de Córdoba (Argentina).

Los resultados medios de **glucosa** obtenidos en nuestro estudio, varían muy poco entre las diferentes regiones (Tabla 12) y son inferiores a los señalados por Swallow y Low (1990); Tuberoso et al. (1994); Esti et al. (1997); López (1998); Al-Khalifa et al. (1999); Balanza (2003); Finola et al. (2007). Valores similares fueron señalados en mieles españolas por White et al., (1962); McGregor (1979); Mostafa et al. (1982); Huidobro y Simal (1984a); Serra et al. (1987); Sancho et al. (1991b); Sabatini (1991); Juan et al. (1992); Serra y Ventura (1993); Martínez et al. (1993); Frías et al. (1993); Sanz et al. (1994) y Pérez-Arquillué et al. (1994); Salinas et al. (1994a); Serra y Ventura (1995); Cavia et al. (2002); Soria et al. (2004).

La media global obtenida de **sacarosa** (Tabla 13) es superior a la señalada por otros autores en mieles españolas (Sanz y Triguero, 1970; Mostafa et al., 1982; Huidobro y Simal, 1984; Serra et al., 1987; Serra y Cañas, 1988; Alcalá y Gómez, 1990; Sancho et al., 1991b; Juan et al., 1992 en mieles milflores, frutales y romero; Serra y Ventura, 1993; Martínez et al., 1993; Sanz et al., 1994; Pérez-Arquillué., 1994) y en mieles extranjeras estudiadas por McGregor (1979); Sabatini (1991); Hişil y Bağdatlioğlu (1994); y Tuberoso et al. (1994). Y fueron similares a las concentraciones señaladas por Frías et al. (1993) y Serra y Ventura (1995). Y inferiores a los encontrados por Ouchemoukh et al. (2007).

De acuerdo con Hadorn y Zücher (1963), porcentajes de sacarosa superiores al 8% son característicos de mieles adulteradas por alimentación artificial de las abejas con azúcar, además de ser indicativos de una maduración inadecuada o presencia de mielatos (Serra, 1986; Serra et al., 1987). Mendes et al. (1998) encontraron valores muy variables de sacarosa, cercanos al 8% en algunas muestras, mientras en otras sólo están presentes en cantidades de trazas. Igualmente ocurre en mieles españolas (Sancho et al., 1991; Mateo et al., 1997). Ninguna de las muestras analizadas en nuestro estudio presentó valores superiores al 8 %.

### 5.3.2.3. Sólidos Insolubles y Sólidos Totales

Los resultados obtenidos de sólidos insolubles y sólidos totales se muestran en las (Tablas 14 y 15).

**Tabla 14.** Sólidos insolubles en (%) de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	0,0799	0,0392	0,022 - 0,170	49,017
B- Sofala	37	0,0779	0,0438	0,026 - 0,172	56,249
C- Inhambane	57	0,0735	0,0417	0,012 - 0,216	56,837
D- Maputo	42	0,0796	0,0377	0,028 - 0,149	47,402
Total	189	0,0775	0,0405	0,012 - 0,216	52,085

N: numero de muestras

Los valores medios de los sólidos insolubles de la miel son similares entre las 4 regiones y con mayor variabilidad en Sofala e Inhambane. Un total de 28,57% de muestras de las 4 regiones presentó valores de sólidos insolubles superiores a 0,1% considerado por algunos autores como límite en general pero no superó al 0,5% el límite máximo para miel prensada Norma de Calidad (Anónimo 2003), indicativo de un bueno proceso de extracción. No hay diferencias significativas entre las medias de sólidos insolubles de las diferentes regiones de estudio, ( $p > 0,05$ ) (Tabla VII-10 apartado VII).

Los valores obtenidos de sólidos insolubles de primera época en el año 2005 son significativamente superiores a los de la segunda época de los años 2004 y 2005 ( $p=0,0057<0,05$ ).

**Tabla 15.** Sólidos Totales en % de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	81,97	0,59	81,10 - 83,40	0,727
B- Sofala	37	82,47	1,45	80,35 - 84,70	1,757
C- Inhambane	57	81,45	0,68	80,10 - 82,95	0,845
D- Maputo	42	81,38	1,57	78,35 - 82,80	1,932
Total	189	81,78	1,16	78,35 - 84,70	1,422

N: numero de muestras

Los valores medios de los sólidos totales de la miel son similares entre las 4 regiones y con mayor variabilidad en Sofala, que presenta valores significativamente superiores a los de Inhambane y Maputo. Manica presenta valores significativamente superiores a los de Maputo ( $p < .0001$ ). (Tabla VII-10 apartado VII).

#### 5.3.2.4. Índice Fructosa/ Glucosa y Índice Porcentual Fructosa/Sólidos Totales

Los resultados obtenidos de la relación fructosa/glucosa y relación porcentual fructosa/glucosa se muestran en las (Tablas 16 y 17).

**Tabla 16.** Relación fructosa / glucosa de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	1,38	0,41	0,91 -2,61	29,88
B- Sofala	37	1,26	0,12	0,87- 1,51	9,64
C- Inhambane	57	1,41	0,26	0,91 – 2,09	18,69
D- Maputo	42	1,36	0,16	0,97 – 1,73	11,51
Total	189	1,36	0,28	0,87 – 2,61	20,68

N: numero de muestras

Los resultados de las medias de la relación fructosa/glucosa de la miel de las diferentes regiones muestran que los valores son similares entre las 4 regiones y con mayor variabilidad en Manica que en el resto de regiones. Los resultados estadísticos muestran que no hay diferencias significativas entre los valores de relación fructosa /glucosa de las diferentes regiones ( $p > 0,05$ ). (Tabla VII-7 apartado VII).

Este parámetro ha sido utilizado para predecir la tendencia de la cristalización de la miel, la cual se manifiesta cuando la relación F/G es superior a 1,30 (Bosch et al., 1932), que en su estudio encontraron valores de la relación F/G de 1,00-1,20. Se estima que mieles con una relación fructosa/glucosa superior a 2 no cristalizarán (Crane, 1985). En nuestro estudio encontramos una relación de 0,87-2,61, lo que indica que podríamos estar en un caso de dos grupos de mieles, unos con tendencias a cristalizar y otros no. Soria et al. (2004) encontraron una relación de F/G de 1,13-136.

Por otro lado Balanza (2003) señala que tanto fructosa como la relación fructosa/glucosa podrían servir para la caracterización del origen botánico de la miel e indican que una relación F/G baja, además de provenir de una posible adulteración, podría manifestar la acción de levaduras osmofólicas, en la miel con un contenido de agua superior al 20%.

**Tabla 17.** Relación Fructosa/ Sólidos totales en % de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coficiente de variación</b>
A- Manica	53	47,16	4,43	39,23 - 62,58	9,40
B- Sofala	37	44,86	3,36	34,87 - 48,77	7,49
C- Inhambane	57	47,59	4,22	37,63 - 54,07	8,87
D- Maputo	42	48,17	2,04	44,11 - 54,44	4,24
Total	189	47,06	3,89	34,86 - 62,57	8,27

N: numero de muestras

Los resultados de las medias del cociente fructosa/sólidos totales de la miel muestran algunas diferencias de los valores entre las 4 regiones y con mayor variabilidad en Manica que en el resto. Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas entre las medias de las cuatro regiones ( $p < 0,0008 < 0,05$ ) y los valores del cociente fructosa/sólidos

totales en Sofala son significativamente inferiores que los valores de Maputo y Inhambane, (Tabla VII-7 apartado VII).

### 5.3.3. PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL CONTENIDO DE MINERALES

#### 5.3.3.1. Conductividad eléctrica

Los resultados obtenidos de conductividad eléctrica se muestran en la Tabla 18

**Tabla 18.** Conductividad eléctrica (mS/cm) de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	0,939	0,339	0,305 - 1,433	36,15
B- Sofala	37	1,031	0,872	0,215 - 2,620	84,55
C- Inhambane	57	1,089	0,491	0,264 - 1,979	45,07
D- Maputo	42	0,845	0,446	0,358 - 1,472	52,87
Total	189	0,982	0,549	0,215 - 2,620	55,94

N: numero de muestras

Los resultados de la medias de conductividad eléctrica de la miel muestran algunas diferencias entre las 4 regiones y con mayor variabilidad en Sofala que en el resto. El total de 50,79% de las muestras presentaron valores de conductividad eléctrica superiores a 0,800 mS/cm que es el equivalente a  $800 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  permitidos por el Codex Alimentarius (Anónimo 2001a), como valor límite máximo para mieles de flores, considerándose que valores superiores a este indican que se trata de mieles de mielada (honeydew). Los resultados estadísticos muestran que no hay diferencias significativas entre los valores de la conductividad eléctrica de las diferentes regiones ( $p>0,05$ ). (Tabla VII-8 apartado VII).

Los resultados de las diferentes regiones presentaron homogeneidad de grupos, los coeficientes de variación obtenidos son muy altos, mostrando una gran dispersión de los valores dentro de cada región, superando algunos de ellos los máximos permitidos a nivel internacional, en muestras que presentan todos los demás parámetros encuadrados en los normales de mieles de flores. No se verificó en el sedimento insoluble de dichas muestras elementos propios de la miel de mielada.



La conductividad de la miel muestra homogeneidad de grupos para todas las regiones. Según los valores medios y los resultados estadísticos no hay diferencias significativas entre las diferentes regiones.

Por otro lado la conductividad eléctrica está relacionada con los contenidos de minerales, y es un parámetro útil para discriminar los diferentes orígenes florales de las mieles. Pérez et al. (1990a) indican que un factor que presenta variabilidad según el origen botánico, dándose valores más altos para mieles de bosques que en las florales. En nuestro estudio encontramos mieles con conductividad eléctrica alta y otras con conductividad baja, indicativo que según las zonas apícolas tenemos mieles de diferente origen floral y otras que podrían ser de bosque.

Los resultados medios de la conductividad eléctrica hallados en este estudio son similares a los encontrados en algunas publicaciones para mieles españolas multiflorales y monoflorales Bosch-Reig y Mateo (1984); Pérez et al. (1990a); Sabatini (1991); Serra y Ventura (1993); Pérez-Arquillué et al. (1994); Sanz et al. (1994) en mieles de La Rioja; Sanjuán et al. (1997); Singh et al. (1997) en mieles indianas; Balanza (2003) en mieles de Argentina. En cambio son inferiores a los encontrados por Serra et al. (1987) en mieles monoflorales de España; Riobos (1988); Serra y Cañas (1988); Salinas et al. (1994a) en mieles de Extremadura; Sánchez y Pujolá (1996), mieles de Galicia y López (1998) en mieles de Las Palmas de Gran Canaria; Soria et al. (2004) en mieles de Madrid; Downey et al., (2005) en mieles de Ireland; Ouchemoukh et al. (2007) en mieles de Algeria; Kenjerić et al. (2007) en mieles *Robinia* de Croacia y Acquarone et al. (2007) en mieles Argentinas.

Pérez- Arquillué et al. (1994) señalan que valores bajos de conductividad y cenizas son típicos de las mieles claras, en nuestro estudio hemos encontrado en efecto, valores muy bajos para las mieles blancas.

### 5.3.3.2. Cenizas

Los resultados obtenidos de Cenizas se muestran en la Tabla 19

**Tabla 19.** Cenizas en (%) de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	0,4959	0,2055	0,1252 - 0,8913	41,4451
B- Sofala	37	0,6347	0,4909	0,1256 - 1,7010	77,3467
C- Inhambane	57	0,5574	0,2931	0,2124 - 1,6093	52,5774
D- Maputo	42	0,3415	0,1706	0,1071 - 0,6315	49,9669
Total	189	0,5073	0,3161	0,1071 - 1,7010	62,3052

N: numero de muestras

Los resultados de la medias de las Cenizas de la miel de las diferentes regiones muestran algunas diferencias entre las 4 regiones y con mayor variabilidad en Sofala que en el resto de regiones. El 29,63 % del total de las muestras de las 4 regiones presentaron valores de cenizas superiores a 0,6% considerado por varios autores como límite máximo para las mieles de flores en general y el 7,41 % de las muestras superó el 1 % que son valores propios de las mieles de mielada según el Codex alimentarius (Anónimo 2001a). También unos valores elevados se asocian con la presencia de materia extraña en la miel. Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas entre las medias de las cuatro regiones ( $p=0,0002<0,05$ ) y los valores de cenizas de Maputo son significativamente inferiores que los valores de Sofala y Inhambane, (Tabla VII-9 apartado VII).

Los valores de cenizas de la segunda época del año 2004 son significativamente superiores a los valores de la segunda época de 2005 y primera época de 2006 ( $p= 0,0036 <0,05$ ).

Estos resultados pueden estar asociados a los métodos de extracción de la miel ya que en Sofala un 75% usan prensado de madera y un 25% prensado mediante la mano.

Los resultados de las cenizas hallados (Tabla 19) son similares a los encontrados por Mostafa et al. (1982); Serra y Cañas (1988); Serra (1988); Ortiz (1988); Pérez-Arquillué et al. (1990a); Serra y Ventura (1993); Sanjuán et al. (1997) y López (1998). Todos los resultados, parecen indicar un origen floral, para este tipo de mieles. Nuestros valores fueron inferiores a los obtenidos por Huidobro y Simal (1984a); Riobos (1988); Frías y Hardisson (1991); Frías et al. (1991); Rodríguez et al. (1994) en mieles de Galicia, López et al. (1996); y Sánchez y Pujolá (1996) en mieles españolas. Y fueron superiores a los obtenidos por (Balanza, 2003; Soria et al., 2004; Downey et al., 2005; Finola et al., 2007; Acquarone et al., 2007; Ouchemoukh et al., 2007).

### 5.3.4. ACIDEZ Y PARÁMETROS RELACIONADOS

#### 5.3.4.1. Acidez Libre

Los resultados obtenidos de acidez libre se muestran en la Tabla 20

**Tabla 20.** Acidez libre en (meq/kg) de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	30,29	6,41	15,50 – 47,90	21,168
B- Sofala	37	37,42	9,00	24,93 – 49,50	24,058
C- Inhambane	57	34,79	5,46	21,85 - 49,60	15,691
D- Maputo	42	37,79	9,80	23,75 – 49,65	25,936
Total	189	34,71	8,11	15,50 – 49,65	23,367

N: numero de muestras

Los valores medios de la acidez libre de las mieles presentan alguna diferencia entre las 4 regiones y con mayor variabilidad en Maputo. El 22,75% de las muestras de las 4 regiones presentaron valores superiores al 40 meq/kg considerado por varios autores como límite. Sin embargo no superó al 50 meq/kg establecidos como límite máximo en las Normas de calidad (Anónimo 2001a; Anónimo, 2003). Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas entre las medias de las cuatro regiones ( $p < .0001$ ) y los valores de la acidez libre en Manica son significativamente inferiores que en el resto de las tres regiones. (Tabla VII-11 apartado VII)

Pese a los valores de acidez obtenido, nuestras mieles no presentaron alteraciones a lo largo de todo el período de análisis, y no se detectaron signos de fermentación. Hay mieles que de forma natural y recién extraídas presentan una acidez libre mayor que el límite legal estipulado, sin que por ello planteen problemas de fermentación, conservación ni alteración (Sanz y Triguero, 1970; Riolobos, 1988; Sancho et al., 1991a; Frias y Hardisson, 1991; Sanz et al., 1994).

En cuanto al estudio por épocas de muestra se puede observar que los valores de la segunda época 2004 son significativamente superiores al resto de las épocas de los años 2005 y 2006 ( $p < .0001$ ).

Sancho et al. (1991a) en un estudio realizado sobre mieles del País Vasco, encontraron un valor medio de acidez libre de 30,5 meq/kg, indicando la alta probabilidad de que con el transcurso del tiempo este valor supere el límite establecido por la norma del Codex Alimentarius. Los resultados obtenidos en nuestro estudio son similares a los de Sanz y Triguero (1970); McGregor (1979) en mieles de Estados Unidos; Huidobro y Simal (1984a); Frías y Hardisson (1991); Serra y Ventura (1993); Salinas et al. (1994a); López et al. (1996); Esti et al. (1997); Singh et al. (1997); López (1998); Costa et al. (1999); Al-Khalifa et al. (1999); Conti, (2000); da Azeredo et al. (2003); Soria et al. (2004); Downey et al. (2005); Acquarone et al. (2007).

Otros autores como Ortiz (1988); Pérez et al. (1990a); Pérez-Arquillué et al. (1994); Garcia et al. (2001); Balanza (2003); Kenjerić et al. (2007); Finola et al. (2007) encontraron valores inferiores en mieles de distintas procedencia.

Dado que estos valores se determinan sobre muestras recién cosechadas, y con un contenido de humedad dentro de los parámetros normales, debe descartarse una fermentación microbiana de las mismas. Al no haber sido sometidas a tratamientos tecnológicos que pudieran afectarla, esta acidez alta debe ser considerada una característica de las mieles de la región.

### 5.3.4.2. Acidez Lactónica y Acidez Total

Los resultados obtenidos de acidez lactónica y acidez total se muestran en las (Tablas 21 y 22).

Tabla 21. Acidez lactónica en (meq/kg) de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	5,15	2,38	1,18 – 9,73	46,189
B- Sofala	37	8,09	4,13	1,65 –15,30	51,026
C- Inhambane	57	4,18	1,57	2,00 – 8,63	37,552
D- Maputo	42	6,36	3,59	1,15 – 14,30	56,416
Total	189	5,70	3,22	1,15 – 15,30	56,445

N: numero de muestras

Los valores medios de acidez lactónica de la miel de las 4 regiones presentaron diferencias entre ellas con mayor variabilidad en Sofala y Maputo. Hay diferencias significativas entre las medias de las cuatro regiones ( $p < 0.0001$ ) y en Sofala los valores son significativamente superiores que en el resto de las regiones. Los valores de Maputo son significativamente superiores a los de Inhambane (Tabla VII-12 apartado VII).

Según las épocas de cata los valores de acidez lactónica de la primera época del año 2006 son significativamente superiores a los valores de la segunda época de 2004 y primera del 2005. ( $p = 0,0020 < 0.05$ ).

De acuerdo con White (1962) y coincidiendo con Sancho et al. (1991a), se observó que las muestras con menor acidez lactónica presentaron un pH más elevado, encontrándose entre estas dos variables un coeficiente de correlación  $r = -0,1880$ . En nuestro estudio se observó que las muestras de Inhambane que presentaban menor acidez lactónica también presentaron un pH elevado, encontrándose entre las variables un coeficiente de correlación significativo ( $-0,50474$ ) y ( $p = 0,0000 < 0.05$ ). (Tabla 37)

En la composición o tipificación de mieles de diferentes procedencias, generalmente se presentan los valores de la acidez ya sea libre o total, aunque en pocos se presentan ambos o bien la acidez debida a lactonas (Sancho, 1991; Singh y Bath, 1996; Andrade et al., 1999).

Los valores medios hallados por los autores antes citados en mieles portuguesas, indias y del País Vasco (España) se hallan en un rango de 1,25 a 11,3 meq/kg en el primer caso, de 15 a 21 meq/kg en el segundo y una media de 10,75 en el tercero. Nuestros resultados presentados en la (Tabla 21) de las mieles de Mozambique fueron 1,15 y 15,30 similares a las mieles portuguesas, indias y Argentinas que presentan valores entre 0 y 17,5 meq/kg.

Los valores obtenidos en nuestro estudio son similares a los encontrados por Sanz y Triguero (1970); Huidobro y Simal (1984a); Sancho et al. (1991a); Frias y Hardisson (1991); Sanz et al. (1994) y Salina et al. (1994a) en diversas mieles españolas, aunque superiores a los obtenidos por Pérez-Arquillué et al. (1990a); Serra y Ventura (1993); Martínez et al. (1993); Pérez-Arquillué et al. (1994) y Balanza (2003); Soria et al. (2004); Downey et al. (2005).

**Tabla 22.** Acidez total en (meq/kg) de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	35,44	6,46	20,50 – 51,90	18,225
B- Sofala	37	45,50	6,32	35,23 – 55,10	13,894
C- Inhambane	57	38,98	5,76	26,90 – 57,50	14,776
D- Maputo	42	44,15	10,67	31,00 – 57,75	24,172
Total	189	40,42	8,35	20,50 – 57,75	20,658

N: numero de muestras

Los valores medios de acidez total presentan algunas diferencias entre las 4 regiones con mayor variabilidad en Maputo. El 17,66 % del total de muestras de las 4 regiones presentaron valores superiores al 50 meq/kg establecidos como límite máximo en la Norma de calidad española (Anónimo, 2003). El estudio estadístico muestra que los valores de la acidez total en Sofala y Maputo son significativamente superiores que los valores de Inhambane y Manica. ( $p < .0001$ ), (Tabla VII- 13 apartado VII).

Los resultados según la época de cata, muestran que los valores de la segunda época del año 2004 son significativamente superiores a los valores de las dos épocas del 2005 y primera del 2006 ( $p < .0001$ ).

Los valores de acidez total de la miel encontrados en diversas publicaciones son muy variables y coincidentes con en este estudio. Al-Khalifa et al. (1999) presentan para mieles saudíes valores medios entre 10 y 39,7 meq/kg, con coeficientes de variación no superiores al 2%, mientras Esti et al. (1997) señalan valores entre 12 y 38 meq/kg, con coeficientes de variación del 23% para mieles de una región italiana. Iurlina y Fritz (2003) encontrarán valores entre 18,30 y 20,60 meq/kg en mieles Argentinas; da Azeredo et al. (2003) hallaron valores entre 28,2 y 39,5 meq/kg; Balanza (2003) encontró valores entre 14,02 y 42,83 meq/kg, con coeficiente de variación de 22,73% en mieles de Argentina y en nuestro estudio encontramos valores entre 20,50 y 57,75 meq/kg con un coeficiente de variación de 20,65%.

Los valores medios obtenidos en nuestro estudio presentados en la (Tabla 22) son similares a los encontrados por Sanz y Triguero (1970); Huidobro y Simal (1984a); Sancho et al. (1991a); Frias y Hardisson (1991); Serra y Ventura (1993); Sanz et al. (1994) y Salina et al. (1994a); López et al. (1996); López (1998) en mieles de Gran Canaria; Downey et al. (2004); Acquarone et al. (2007) en mieles Argentinas. En otros estudios realizados por Pérez et al. (1990a); Sabatini (1991) en mieles de cítricos (*Citrus spp*), castaño (*Castanea sativa*), eucalipto (*Eucalyptus spp*), girasol (*Helianthus annus*), zulla (*Hedysarum cotonarium*), rododendro (*Rhododendron spp*), Robinia y mielada; Martínez et al. (1993); Pérez-Arquillué et al. (1994) y Balanza (2003) los valores encontrados son inferiores a las mieles de Mozambique.

### 5.3.4.3. pH

Los resultados obtenidos de pH se muestran en la Tabla 23

**Tabla 23.** pH de la miel (solución 10 g de miel + 75 mL agua) de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	4,33	0,326	3,72 – 4,83	7,53
B- Sofala	37	4,16	0,531	3,56 – 5,05	12,75
C- Inhambane	57	4,42	0,385	3,85 – 5,24	8,72
D- Maputo	42	4,11	0,261	3,72 – 4,44	6,36
Total	189	4,27	0,398	3,56 – 5,25	9,31

N: numero de muestras

Los valores medios de pH de la miel son similares y con mayor variabilidad en Sofala. Un 32,27% de muestras de las 4 regiones presentó valores superiores a 4,5, indicados por algunos autores (Frías y Hardisson, 1992) como miel de mielada. El estudio estadístico muestra diferencias significativas entre las medias de las cuatro regiones ( $p= 0,0002 < 0,05$ ) y los valores de pH en Inhambane son significativamente superiores que los valores de Sofala y Maputo y los de Manica son significativamente superiores a Maputo (Tabla VII-14 apartado VII).

Nuestros valores de pH son semejantes a los encontrados en la bibliografía, en la que aparecen rangos mucho mayores, de 3,5 al 6,1 en mieles saudíes (Al-Khalifa, 1999) y con desviaciones estándar más elevadas, o mayores variaciones (Sancho et al., 1991a). En cambio Balanza (2003) encontró diferencias significativas para el pH y los valores se presentaban en un rango reducido, con desviaciones estándar muy pequeñas y coeficientes de variación inferiores al 5%.

Pérez-Arquillué et al. (1990a), en un estudio para establecer diferencias entre mieles de frutales (*Prunus amygdalus* + *Prunus sp.*), de romero (*Rosmarinus officinalis*), zadorija (*Hypocoum procumbens*) y sauce (*Salix sp.*) de Zaragoza, encontraron valores de pH en frutales superiores a 4, mientras que en las restantes fueron de 3,7; 3,68 y 3,65, respectivamente.

Según Frías y Hardisson (1992), si el pH de las disoluciones acuosas de miel es superior a 4,5 indica un posible origen de mielada. El 67,83% de los valores de pH de las muestras estudiadas son semejantes a los obtenidos por distintos autores: Bosch-Reig y Mateo (1984) y Montero et al. (1988) en mieles españolas de distinto origen floral; Serra (1988) en mieles de *Lavandula latifolia* españolas; Riobos (1988) en mieles de Villuerca-Ibores; Sancho et al. (1990a) en mieles del País Vasco; Sabatini (1991) en mieles italianas; Serra y Ventura (1993) en mieles de *Lavandula stoeches*; Martínez et al. (1993) en mieles de eucalipto (*Eucalyptus sp.*); Salinas et al. (1994a) en mieles extremeñas; Pérez-Arquillué et al. (1994) en mieles de romero (*Rosmarinus officinalis*) de Zaragoza; y López et al. (1996) en mieles no procesadas y procesadas en Galicia; López (1998) mieles de Gran Canaria; Garcia et al., (2001); Cavia et al., (2002) en mieles de Burgos; Balanza (2003) y Iurlina y Fritz (2003) en mieles Argentinas; Anupama et al. (2003) mieles de Indias; Soria et al. (2004) en mieles de Madrid; Acquarone (2007) en mieles Argentinas.



Da Azeredo et al. (2003) encontraron en mieles monoflorales y multiflorales valores de acidez total de 28,2 y 39,5 meq/kg semejantes a los encontrados en nuestro estudio pero sus valores de pH eran inferiores a los nuestros (3,20 y 3,84).

#### 5.3.4.4. Relación Acidez Lactónica /Acidez Libre

Los resultados obtenidos de la relación acidez lactónica y libre se muestran en la Tabla 24

**Tabla 24.** Relación entre la acidez lactónica/acidez libre de la miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	0,182	0,104	0,037 - 0,475	57,068
B- Sofala	37	0,250	0,169	0,035 - 0,597	67,614
C- Inhambane	57	0,124	0,058	0,062 - 0,390	46,804
D- Maputo	42	0,179	0,122	0,037 - 0,505	67,935
Total	189	0,177	0,121	0,035 - 0,597	68,268

N: numero de muestras

Los valores medios de la relación acidez lactónica/acidez libre muestran alguna diferencia entre las 4 regiones con mayor variabilidad en Sofala. Los resultados estadísticos indican diferencias significativas ( $p < .0001$ ) y que los valores de la relación acidez lactónica/acidez libre en Sofala son significativamente superiores que los valores de las otras regiones. Los valores de Manica son significativamente superiores a Inhambane (Tabla VII-15 apartado VII).

Según las épocas de recogida de las muestras de miel los valores de la relación acidez lactónica/acidez libre de la segunda época 2004 son significativamente inferiores a los de la segunda época de 2005 y primera de 2006 ( $p = 0,0015 < 0.05$ ).

Este parámetro sigue un patrón de variación similar al de la acidez de lactónica, mostrando diferencias significativas en las diferentes regiones. Los valores medios obtenidos en esta relación son semejantes a los presentados en otras publicaciones para las mieles y distintos de los encontrados por Balanza (2003), que fueron mucho más bajos.

### 5.3.5. PARÁMETROS RELACIONADOS CON FRESCURA

#### 5.3.5.1 Hidroximetilfurfural (HMF)

Los resultados obtenidos de hidroximetilfurfural se muestran en la Tabla 25

**Tabla 25.** Contenido de HMF en (mg/kg) de la miel de las diferentes regiones

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	18,37	15,04	4,26 - 44,83	81,89
B- Sofala	37	10,28	4,98	2,84 - 21,06	48,55
C- Inhambane	57	11,56	8,27	2,02 - 35,73	71,56
D- Maputo	42	13,15	4,71	3,28 - 24,94	35,78
Total	189	13,57	10,12	2,02 - 44,83	74,58

N: numero de muestras

Los valores medios de hidroximetilfurfural muestran que hay diferencias entre las 4 regiones con mayor variabilidad en Manica. Del total de las muestras estudiadas 9 (4,76%) presentaron valores superiores al límite máximo de 40mg/kg de hidroximetilfurfural para mieles en general, establecido por (Anónimo, 2003; Anónimo 2001a). Sin embargo ninguna de las muestras estudiadas superó 80 mg/kg el límite permitido por (Anónimo 2001a), para mieles procedentes de regiones de clima tropical como es el caso de Mozambique.

Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas entre las medias de las cuatro regiones ( $p=0,0003<0,05$ ) y que los valores de HMF en Manica son significativamente superiores al resto. (Tabla VII-16 apartado VII).

Según las épocas de recogida de las muestras de miel los valores de HMF de segunda época del año 2004 son significativamente superiores a los valores del resto de las épocas de los años 2005 y 2006 ( $p<.0001$ ).

Estos resultados se pueden asociar a las condiciones de obtención, ya que en Manica la mayoría de los productores no dispone de agua potable.

Los resultados de los valores de hidroximetilfurfural de las mieles estudiadas presentados en la Tabla 25, son superiores a los encontrados por Huidobro y Simal (1984a), en mieles de Galicia; Sanz et al. (1994); Pérez-Arquillué et al. (1990b), en mieles de distinto origen botánico; Pérez-Arquillué et al. (1994), en mieles de romero; Riobos (1988) en mieles de Villuerca-Ibor; Sanjuán et al. (1997); Balanza (2003) en mieles de Argentina; Soria et al (2004) en mieles de Madrid; Downey et al. (2005) en mieles de Ireland. También fueron similares a los encontrados por Frías y Hardisson (1991), en mieles de Tenerife; Estupiñan et al. (1997), en mieles de Gran Canaria; De acuerdo con Bosch et al. (1986), las mieles Canarias, al proceder de zonas cálidas, presentarían valores superiores de hidroximetilfurfural, a los de las mieles procedentes de zonas frías; López (1998) en mieles de Gran Canaria encontró valores ligeramente superiores a los de este estudio; Finola et al. (2007) en mieles de Argentina;

### 5.3.5.2. Índice de Diastasa (ID)

**Tabla 26.** Contenido de Índice de diastasa en ° Gothe de miel de las diferentes regiones.

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	12,71	4,15	5,79 - 22,86	32,65
B- Sofala	37	12,67	3,55	4,11 - 20,26	28,04
C- Inhambane	57	27,08	19,15	3,54 - 64,02	70,55
D- Maputo	42	15,26	9,11	5,21 - 44,63	59,72
Total	189	17,60	13,19	3,54 - 64,02	74,95

N: numero de muestras

Los valores medios de índice de diastasa muestran diferencias entre las 4 regiones y con mayor variabilidad en Inhambane. Un total de 30 muestras (15,87%) de las 4 regiones presentaron valores de índice de diastasa inferiores al límite de a 8° Gothe, pero al ser superiores a 3° y el hidroximetilfurfural de 20 muestras, inferior a 15 mg/kg, cumple lo estipulado en la norma de calidad (Anónimo, 2003; Anónimo 2001a), para mieles con un bajo contenido natural de enzimas (mieles de cítricos). Sin embargo, 10 de las muestras presentaron valores superiores a 3° Gothe y el hidroximetilfurfural superior a 15 mg/kg, por lo que no cumplieron con la normativa. Los resultados estadísticos muestran diferencias

significativas entre las regiones ( $p < .0001$ ) y los valores del índice de diastasa de Inhambane son significativamente superiores al resto de las regiones (Tabla VII-16 apartado VII).

Los valores obtenidos en nuestro estudio coinciden con (Al-Khalifa y Al-Arif, 1999), que refieren a la variabilidad de la actividad enzimática en los diferentes tipos de mieles dependiendo del tiempo de colección del néctar, su abundancia y el contenido en azúcares y la edad de las abejas.

Según las épocas de recogida, los valores de índice de diastasa de la primera época del año 2005 son significativamente inferiores a los valores del resto de las épocas (2004, 2005 y 2006). ( $p < .0001$ ).

Los valores obtenidos para el índice de diastasa son inferiores a los obtenidos por Frías y Hardisson (1990) en mieles de Tenerife y Pérez-Arquillué et al. (1994) en mieles de romero (*Rosmarinus, officinalis*) de Zaragoza, pero se encuentran dentro del rango considerado normal por Huidobro y Simal (1984a), en mieles de Galicia; Sanz et al. (1994), en mieles de La Rioja; Pérez-Arquillué et al. (1990b) en mieles de distintos orígenes florales de Zaragoza; Sanjuán et al. (1997), en mieles de La Palma; López (1998) mieles de Gran Canaria y Balanza (2003), mieles de Argentina; Soria et al. (2004) en mieles de Madrid. Y fueron superiores a los obtenidos por Serrano et al. (2007) en mieles de Andalucía.

Estos dos parámetros son indicadores del grado de frescura, ya que evolucionan con el tiempo, aumentando el hidroximetilfurfural (HMF) y disminuyendo el índice de diastasa (ID), así como de una mala práctica durante la obtención, con un calentamiento excesivo.

### 5.3.6. PARÁMETROS DEL COLOR

Los resultados de la medida de color se ha realizado según el espacio uniforme de color CIE L\*a\*b\* se muestran en las (Tabla 27, 28 y 29).

**Tabla 27.** Valores de L\* (luminosidad) de la miel de las diferentes regiones (Iluminante D65, 10°)

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	17,12	9,39	8,76 - 50,40	54,88
B- Sofala	37	13,93	4,59	6,05 - 25,95	32,97
C- Inhambane	57	10,48	1,91	7,36 - 16,31	18,27
D- Maputo	42	10,23	2,56	6,11 - 18,03	25,06
Total	189	12,96	6,29	6,05 - 50,40	48,54

N: numero de muestras

Los valores medios de Luminosidad L\* diferencias entre las 4 regiones y con mayor variabilidad en Manica. Todas las muestras presentaron valores de luminosidad positiva ya que son todos superiores a 0. Cabe destacar que Manica es la region con valores más elevados que el resto. Según CIElab (1976) el parámetro L\* varia de 0 a 100 (0 es negro y 100 blanco). Un valor positivo indica que el color de la muestra es más claro que el modelo y un valor negativo indica que el color de la muestra es más oscuro.

Los resultados estadísticos muestran diferencias significativas entre las medias de las cuatro regiones ( $p < .0001$ ). Los valores de L\* en Manica son significativamente superiores al resto de las regiones y los valores de Sofala son significativamente superiores a Inhambane y Maputo, (Tabla VII-17 apartado VII).

**Tabla 28.** Valores de  $a^*$  (color rojo - verde) de la miel de las diferentes regiones (Iluminante D65, 10°)

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	3,37	1,77	0,93 - 7,46	52,42
B- Sofala	37	1,06	1,81	-0,46 - 8,03	171,39
C- Inhambane	57	2,36	0,47	1,62 - 3,29	20,04
D- Maputo	42	1,98	0,55	0,90 - 3,37	27,75
Total	189	2,30	1,51	-0,46 - 8,03	65,44

N: numero de muestras

Los valores medios de  $a^*$  de las diferentes regiones (Tabla 28) son poco diferentes y con mayor variabilidad en Sofala con valor negativo, lo que significa color verde. El 8,47% correspondientes a 16 muestras del total presentó valores negativos lo que indica que el color de estas muestras es verde, siendo el resto de color rojo, pues de acuerdo con los valores del espacio de color  $L^* a^* b^*$  (CIE 1976) si el valor de  $a^*$  es  $>0$  el color es rojo y si es  $< 0$  el color es verde. Según los resultados estadísticos los valores de  $a^*$  en Manica son significativamente superiores al resto de las regiones y los valores de Sofala son significativamente inferiores a los de Inhambane y Maputo ( $p < .0001$ ). (Tabla VII-17 apartado VII).

**Tabla 29.** Valores de  $b^*$  (color amarillo - azul) de la miel de las diferentes regiones (Iluminante D65, 10°)

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	7,03	3,16	3,76 -14,05	44,97
B- Sofala	37	4,03	1,83	1,94 -12,31	45,39
C- Inhambane	57	4,43	0,97	2,93 - 6,84	21,86
D- Maputo	42	4,42	1,35	2,25 - 8,54	30,46
Total	189	5,08	2,37	1,94 -14,05	46,59

N: numero de muestras

Los valores medios de  $b^*$  de las diferentes regiones (Tabla 29) muestran alguna diferencia con mayor variabilidad en Manica. Todas las muestras estudiadas presentaron color amarillo de acuerdo con los valores del espacio de color  $L^* a^* b^*$  (CIE 1976). Si el valor de  $b^*$  es  $>0$  el color es amarillo y si el valor fuera  $< 0$  el color es azul. Los resultados estadísticos muestran que los valores de  $b^*$  en Manica son significativamente superiores al resto de las regiones. ( $p<.0001$ ), (Tabla VII-17 apartado VII).

Los resultados obtenidos de luminosidad presentados en la (Tabla 27) son superiores a los de Anupama et al. (2003) pero son inferiores a los encontrados por Mateo y Bosch-Reig (1998) en mieles uniflorales. Y para el caso de los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  los valores obtenidos en nuestro estudio presentados en las (Tablas 28 y 29) son inferiores a los encontrados por Anupama et al. (2003); Balanza (2003). Soria et al. (2004) encontraron valores inferiores de  $L^* a^* b^*$  a los nuestros en mieles de Madrid.

**Tabla 30.** Valores de  $C^*_{ab}$  (Croma) de la miel de las diferentes regiones (Llumiantes D65, 10°)

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	7,88	3,42	4,61 - 14,17	43,30
B- Sofala	37	4,37	2,19	1,97 - 14,69	50,11
C- Inhambane	57	5,04	0,96	3,43 - 7,07	19,06
D- Maputo	42	4,43	1,26	2,42 - 9,18	28,62
Total	189	5,57	2,64	1,97 - 14,69	47,28

N: numero de muestras

Los valores medios de croma muestran diferencias en las 4 regiones (Tabla 30) y con mayor variabilidad en Sofala. Los resultados estadísticos muestran que los valores de croma en Manica son significativamente superiores al resto de las regiones, ( $p<.0001$ ). (Tabla VII-18 apartado VII).

Balanza (2003) encontró valores inferiores de croma en mieles muy claras, aunque refiere que el croma por sí solo no es un indicador adecuado del color, debiéndose analizar siempre conjuntamente con el ángulo de tono. En el presente estudio los valores de croma son superiores a los encontrados por Balanza (2003), pero con valores de croma bajas para mieles más oscuras.

**Tabla 31.** Valores de  $H^*_{ab}$  (Tono) de la miel de las diferentes regiones (Iluminante D65, 10°)

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	2,40	1,56	1,18 – 8,29	65,06
B- Sofala	37	0,97	9,83	-23,71 - 19,27	1009,48
C- Inhambane	57	1,93	0,53	1,26 – 3,84	27,77
D- Maputo	42	2,32	0,69	1,35 – 4,02	29,61
Total	189	1,96	4,43	-23,71 – 19,27	225,98

N: numero de muestras

Los valores medios de tono (Tabla 31) muestran diferencias significativas y con mayor variabilidad en Sofala. Según los resultados estadísticos no hay diferencias significativas entre las regiones ( $p=0,4526 > 0,05$ ) (Tabla VII-18 apartado VII).

El ángulo del tono es uno de los parámetros de mayor importancia para caracterizar el color. Esto se debe a la gran variación de colores que presentan las muestras de todas las regiones, en las que aparecen mieles desde muy claras a muy oscuras (ámbar oscuro).

Los resultados obtenidos en nuestro estudio son inferiores a los encontrados por Balanza (2003) en mieles de Argentina que tampoco encontró diferencias significativas en el ángulo de tono, pero detectó una gran dispersión en los valores, debido a la gran variación de color presentada por las muestras, encontrando zonas con mieles claras (ángulo de tono elevado) y otras más oscuras (con ángulo de tono bajo)

**Tabla 32.** Valores de  $S^*_{ab}$  (saturación) de la miel de las diferentes regiones (Iluminante D65, 10°)

<b>Region</b>	<b>N</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
A- Manica	53	0,48	0,06	0,28 - 0,58	11,67
B- Sofala	37	0,34	0,14	0,11 - 0,58	41,60
C- Inhambane	57	0,48	0,03	0,42 - 0,55	7,09
D- Maputo	42	0,43	0,06	0,34 - 0,51	13,34
Total	189	0,44	0,09	0,11 - 0,58	21,15

N: numero de muestras



Los valores medios de Saturación muestran diferencias entre las diferentes regiones y con mayor variabilidad en Sofala. Los resultados estadísticos muestran que los valores de saturación de Inhambane y Manica son significativamente superiores a Maputo y Sofala.

( $p < .0001$ ) (Tabla VII-18 apartado VII).

#### **5.4. CORRELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS**

La Tabla 33 muestra las correlaciones entre los parámetros microbiológicos y físico-químicos de la miel, a través de los coeficientes de correlación y los correspondientes valores de  $p$ .

Los coeficientes de correlación de Pearson toman valores entre -1 y +1, y miden la fuerza de la relación lineal entre las variables. El valor  $p$  mostrado en la tabla prueba la significación estadística de las correlaciones estimadas. Los valores con  $p$ -valor  $< 0,05$  indican correlaciones estadísticamente significativas para un nivel de confianza del 95%.

**Tabla 33.** Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p de los parámetros microbiológicos y físico químicos.

<b>Variables relacionadas</b>	<b>Coefficiente de correlación Pearson</b>	<b>Valor p</b>
Aerobios mesófilos/ Actividad agua	0,2549	0,0004
Aerobios mesófilos/ Sólidos insolubles	0,2228	0,0021
Aerobios mesófilos/ Fructosa	-0,3099	0,0000
Aerobios mesófilos/ Glucosa	0,3879	0,0000
Aerobios mesófilos/ Sacarosa	0,3107	0,0000
Aerobios mesófilos/ Acidez libre	-0,3171	0,0000
Mohos y levaduras/ Actividad agua	-0,2112	0,0035
Mohos y levaduras/ Glucosa	0,2987	0,0000
Mohos y levaduras/ Sacarosa	0,2853	0,0000
Mohos y levaduras/ Sólidos Totales	0,2064	0,0043
Mohos y levaduras/ Acidez libre	-0,1677	0,0210
Mohos y levaduras/ Acidez lactonas	0,3505	0,0000
Mohos y levaduras/ Humedad	-0,2064	0,0043

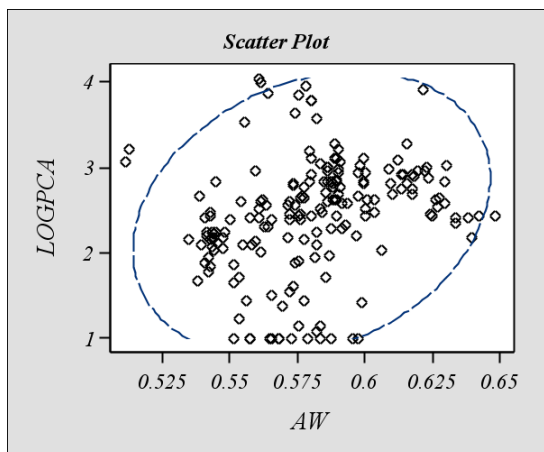
Nota: únicamente se presentó los resultados estadísticamente significativos

Se han buscado correlaciones entre los resultados obtenidos de las variables, observándose entre ellas algunos niveles de relación estadística altamente significativos (\*\*) con  $p \leq 0,001$  y muy significativos (\*) con  $p \leq 0,01$ .

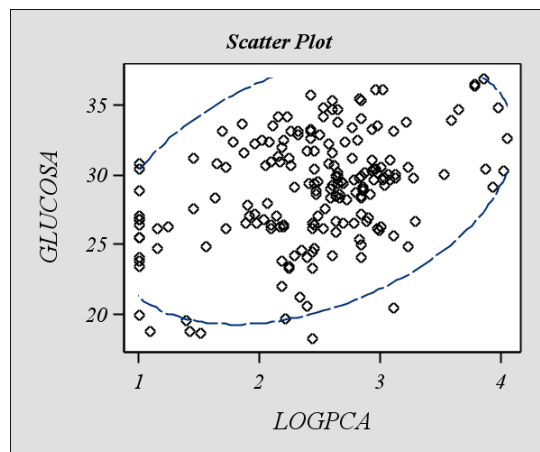
Los microorganismos aerobios mesófilos se encontraron relacionados con la actividad de agua (0,2549\*\*), la glucosa (0,3879\*\*), los sólidos insolubles (0,2228\*) y acidez libre (-0,3171\*\*).

Los mohos y levaduras se encontraron relacionados con actividad de agua (-0,2112\*), glucosa (0,2987\*\*), sólidos totales (0,2064\*) y humedad (-2064\*). Según Mossel et al. (2003) los mohos y levaduras, al contrario que la mayor parte de los microorganismos, pueden desarrollarse utilizando los azúcares presentes como fuente de energía.

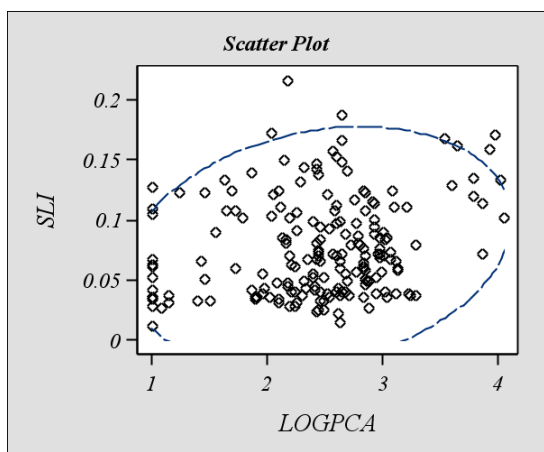
Los gráficos de dispersión (figuras de 17 al 22) muestran las correlaciones estadísticamente significativas, a través de la regresión lineal entre los parámetros correlacionados.



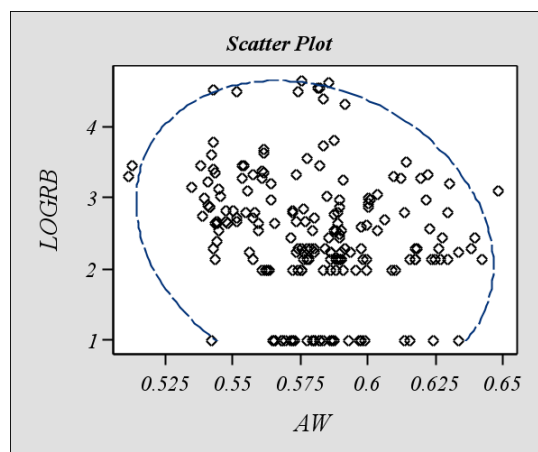
**Figura 17.** Correlación de LogPCA/Aw de la miel.



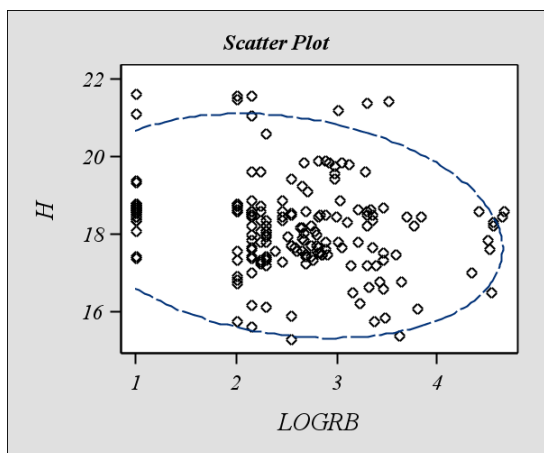
**Figura 18.** Correlación LogPCA/Glu de la miel.



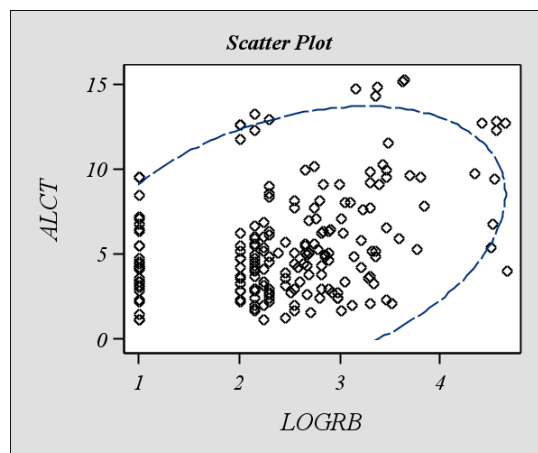
**Figura 19.** Correlación de LogPCA/ SLI de la miel.



**Figura 20.** Correlación de LogRB/ Aw de la miel



**Figura 21.** Correlación de H /LogRB de la miel.



**Figura 22.** Correlación de ALCT/LogRB de la miel.

## 5.5. HUMEDAD Y ACTIVIDAD DE AGUA CORRELACIONADOS CON DIFERENTES PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Se han buscado correlaciones entre los resultados obtenidos de las variables, observándose entre ellas algunos niveles de relación estadística altamente significativos (\*\*) con  $p \leq 0,001$  y muy significativos (\*) con  $p \leq 0,01$ , como puede verse en la Tabla 34.

**Tabla 34.** Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p de los parametros relacionados con el contenido de agua y actividad de agua

<b>VARIABLES RELACIONADAS</b>	<b>COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON</b>	<b>VALOR P</b>
Humedad /Actividad agua	0,5525	0,0000
Humedad/ Sólidos totales	-1,0000	0,0000
Humedad/ Conductividad eléctrica	0,5008	0,0000
Humedad/ pH	0,3099	0,0000
Humedad/ Acidez lactonas	-0,5438	0,0000
Humedad/ Glucosa	-0,3568	0,0000
Actividad agua /Azúcares totales	-0,2871	0,0001
Actividad agua /Acidez total	-0,1653	0,0231
Actividad agua/Conductividad eléctrica	0,3099	0,0000
Actividad agua/ ALCT_AL	-0,4779	0,0000
Actividad agua /pH	0,2683	0,0002
Sólidos totales/Actividad agua	-0,5525	0,0000

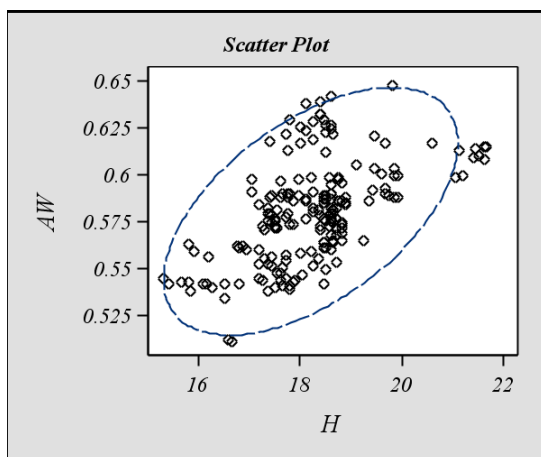
Nota: únicamente se presentó los resultados estadísticamente significativos

Una relación altamente significativa (0,5525\*\*) se observó entre la la actividad de agua y el contenido de humedad. Esto responde a que la actividad de agua ( $a_w$ ), permite dar una idea más exacta de la disponibilidad de agua en el alimento que el propio contenido total de la humedad del producto. Esto queda justificado por la relación directa entre estos dos parámetros señalados por Lázaro (1974). Se encontró también estadísticamente correlacionada la humedad con pH (0,3099\*\*) y glucosa (-0,3568\*\*). Según Crane (1975), la fermentación microbiana de los azúcares, debida sobre todo a altos niveles de humedad, produce alcoholes que se transforman finalmente en ácidos.

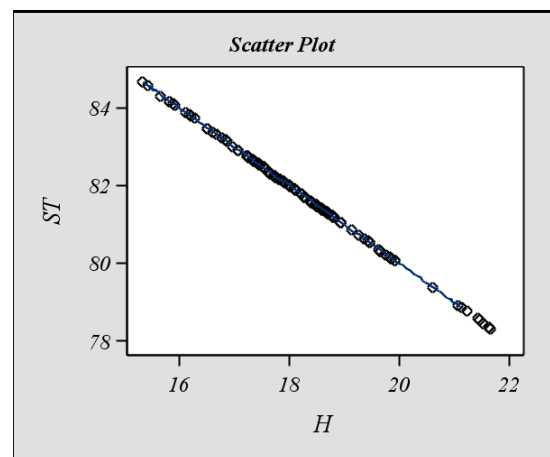
La actividad de agua también se ha relacionado con el cociente acidez láctica-libre ( $-0,4779^{**}$ ) y pH ( $0,2683^{**}$ ), siendo ambos parámetros de importante utilidad para predecir la estabilidad de la miel (Labuza, 1980).

Lázaro (1974) observó la existencia de una relación positiva entre la actividad de agua y la humedad de la miel, confirmada posteriormente por Alcalá (1977). En base a este hecho, se elaboraron varias ecuaciones de predicción de la actividad de agua de la miel a partir su contenido en agua, como la de Alcalá y Gómez (1990) en distintas mieles comerciales españolas.

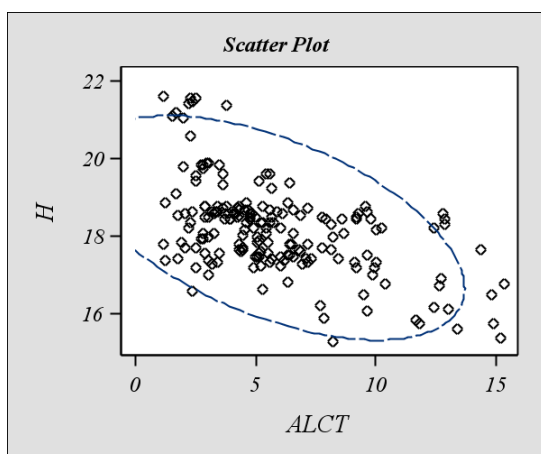
Los gráficos de dispersión (figuras de 23 al 30) muestran las correlaciones estadísticamente significativas, a través de la regresión lineal entre los parámetros correlacionados.



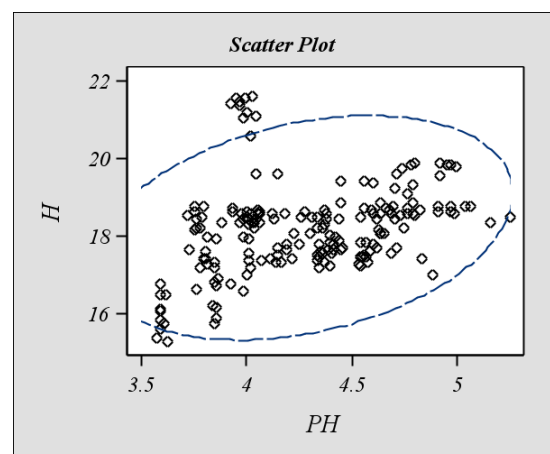
**Figura 23.** Correlación de Aw / H de la miel.



**Figura 24.** Correlación de ST / H de la miel.



**Figura 25.** Correlación de H / ALCT de la miel.



**Figura 26.** Correlación de H / pH de la miel.

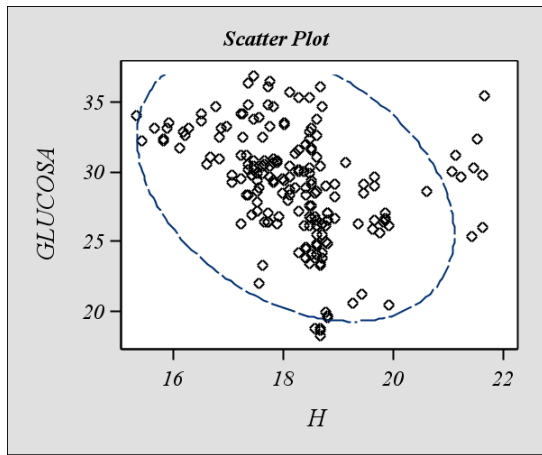


Figura 27. Correlación de Glucosa / H de la miel.

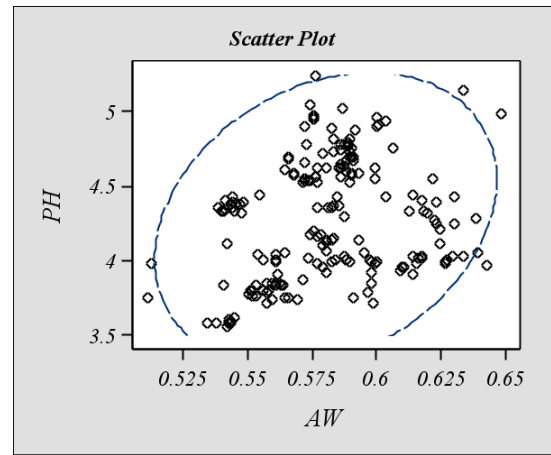


Figura 28. Correlación de pH / Aw de la miel.

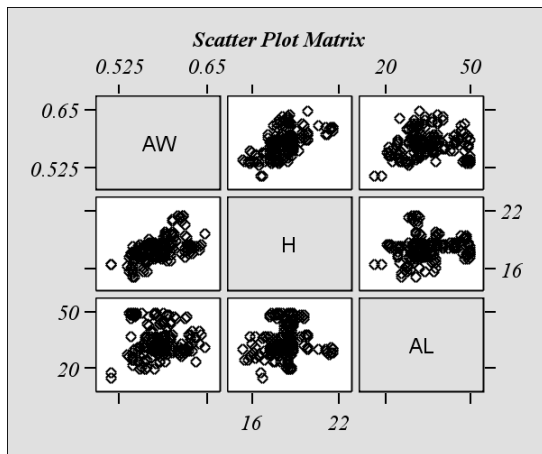


Figura 29. Correlación de Aw / H, AL de la miel.

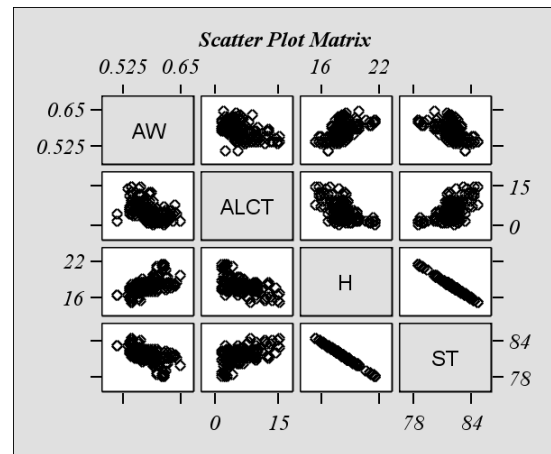


Figura 30. Correlación de Aw /ALCT, H, ST de la miel.

## 5.6. AZÚCARES Y SUS CORRELACIONES CON OTROS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS

Se han estudiado las correlaciones entre los diferentes azúcares (Tabla 35) así como éstos con otros parámetros físico-químicos y microbiológicos con un valor  $p < 0,05$ .

**Tabla 35.** Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p de los parámetros relacionados con Azúcares.

<b>Variables relacionadas</b>	<b>Coefficiente de correlación de Pearson</b>	<b>Valor p</b>
Azúcares totales /Fructosa	0,3507	0,0000
Azúcares totales /Glucosa	0,7378	0,0000
Azúcares totales /Sacarosa	0,4976	0,0000
Azúcares totales/Relación F_G	-0,3781	0,0000
Azúcares totales/ Relación F_ST	0,2827	0,0000
Fructosa / Glucosa	-0,3685	0,0000
Fructosa / Sacarosa	-0,3652	0,0000
Fructosa / Relación F_G	0,7079	0,0000
Fructosa / Relación F_ST	0,9849	0,0000
Glucosa / Relación F_G	-0,8845	0,0000
Glucosa / Relación F_ST	-0,4227	0,0000
Glucosa / Sacarosa	0,6998	0,0000
Relación F_G/ Relación F_ST	0,7394	0,0000
Relación F_G/ Sacarosa	-0,6722	0,0000

Nota: únicamente se presentó los resultados estadísticamente significativos

**Otros parámetros con los cuales también se presentaron correlaciones significativas para  $p < 0,05$**

<b>Variables relacionadas</b>	<b>Coefficiente de correlación de Pearson</b>	<b>Valor p</b>
Azucares totales / Acidez total	-0,2726	0,0001
Azucares totales / Acidez libre	-0,3955	0,0000
Azucares totales/ Acidez lactosas	0,2892	0,0000
Azucares totales / pH	-0,3655	0,0000
Azucares totales / Actividad de agua	-0,2871	0,0000
Azucares totales / Conductividad electrica	-0,5487	0,0000
Azucares totales / Cenizas	-0,5401	0,0000
Azucares totales / Mohos y Levaduras	0,3085	0,0000
Fructosa / Actividad de agua	-0,2110	0,0035
Fructosa / Indice de Diastasa	0,3882	0,0000
Fructosa / Sólidos Insolubles	-0,2219	0,0021
Glucosa / Acidez libre	-0,4122	0,0000
Glucosa / Acidez de lactosas	0,2534	0,0004
Glucosa / Acidez total	-0,3028	0,0000
Glucosa / Conductividad eléctrica	-0,4876	0,0000
Glucosa / Cenizas	-0,4414	0,0000
Glucosa / Hidriximetilfurfural	-0,2156	0,0028
Glucosa / Indice de Diastasa	-0,3371	0,0000
Glucosa / pH	-0,3157	0,0000
Sacarosa / Acidez libre	-0,4020	0,0000
Sacarosa / Acidez de lactosas	0,2962	0,0000
Sacarosa / Acidez total	-0,2762	0,0001
Sacarosa / Conductividad eléctrica	-0,5152	0,0000
Sacarosa / Cenizas	-0,4734	0,0000
Sacarosa / Hidroximetilfurfural	-0,2341	0,0011
Sacarosa / Indice de Diastasa	-0,3671	0,0000
Sacarosa / pH	-0,3859	0,0000
Sacarosa / Aerobios mesófilos	0,3107	0,0000
Sacarosa / Mohos y levaduras	0,2853	0,0000

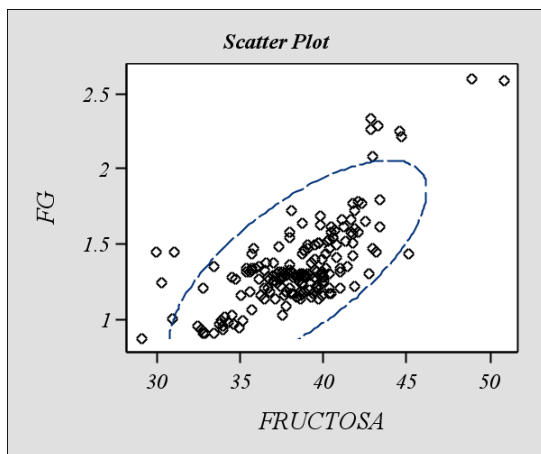
Nota: unicamente se presentó los resultados estadísticamente significativos



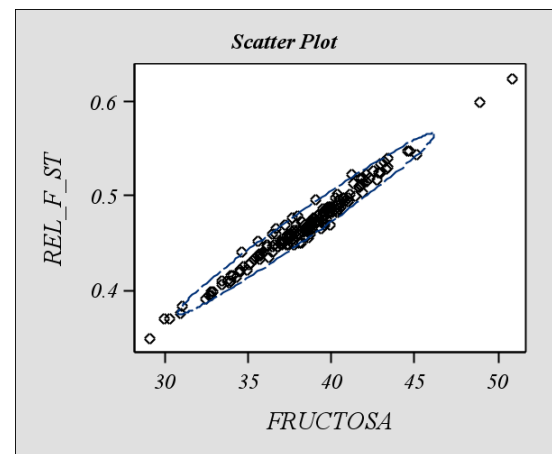
Se han buscado correlaciones entre los resultados obtenidos de las variables, observándose entre ellas algunos niveles de relación estadística altamente significativos (\*\*) con  $p \leq 0,001$  y muy significativos (\*) con  $p \leq 0,01$ .

La glucosa se encontró altamente correlacionado con pH (-0,3157\*\*) y a su vez el pH con la humedad (0,3099\*\*). Según Crane (1975), la fermentación microbiana de los azúcares, debida sobre todo a altos niveles de humedad, produce alcoholes que se transforman finalmente en ácidos.

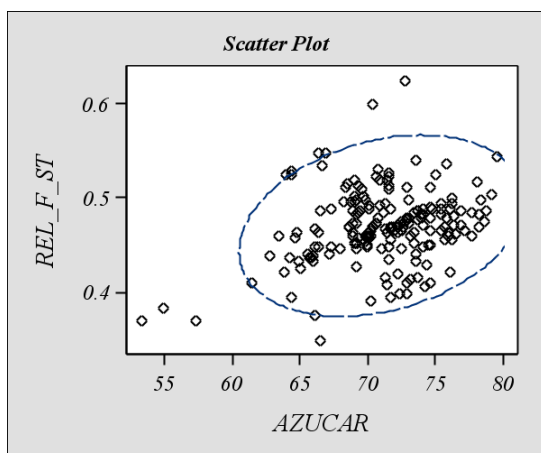
Los gráficos de dispersión (figuras de 31 al 40) muestran las correlaciones estadísticamente significativas, a través de la regresión lineal entre los parámetros correlacionados.



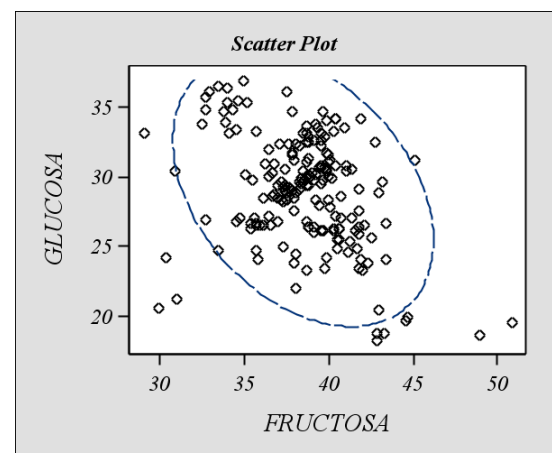
**Figura 31.** Correlación de Relación F\_G /Fde la miel.



**Figura 32.** Correlación de Relación F\_ST/ F miel.



**Figura 33.** Correlación F\_ST/ A.Totales de miel.



**Figura 34.** Correlación de Glucosa/ Fructosa de miel

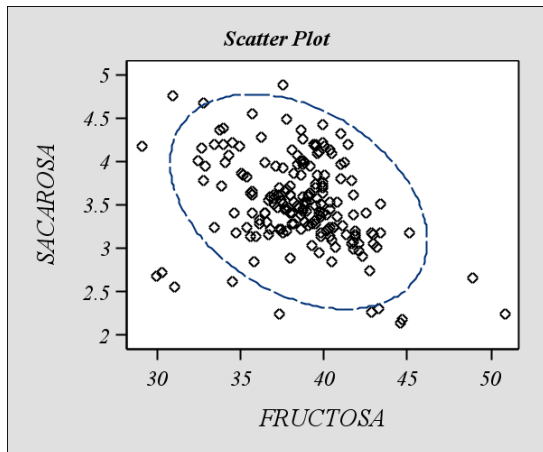


Figura 35. Correlación de Sacarosa / Fructosa de miel.

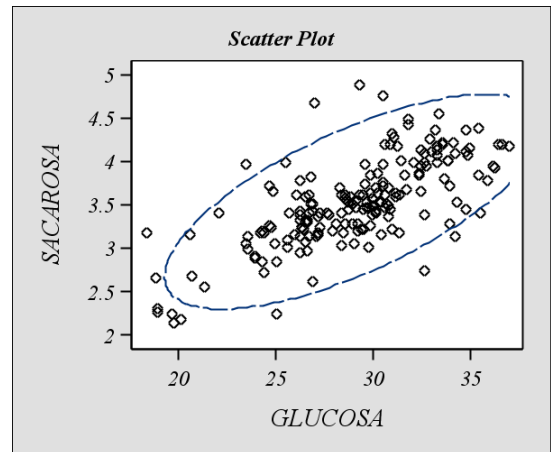


Figura 36. Correlación de Sacarosa/ Glucosa de miel.

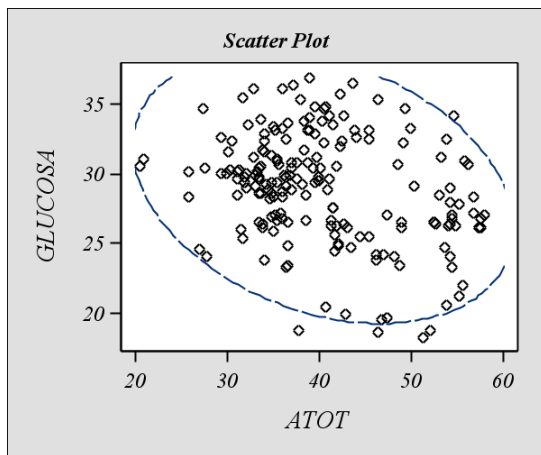


Figura 37. Correlación Glucosa /Acidez total de miel.

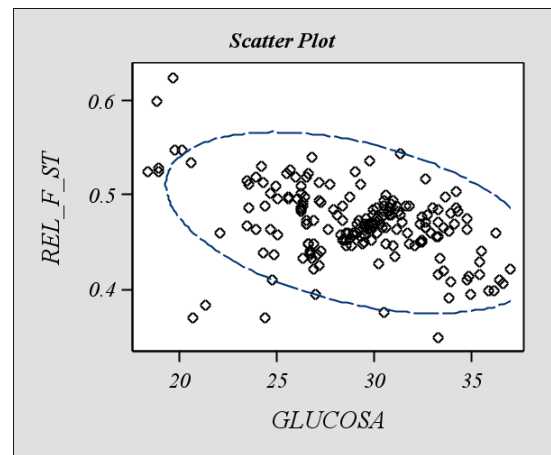


Figura 38. Correlación de Rel.F\_ST /G de miel.

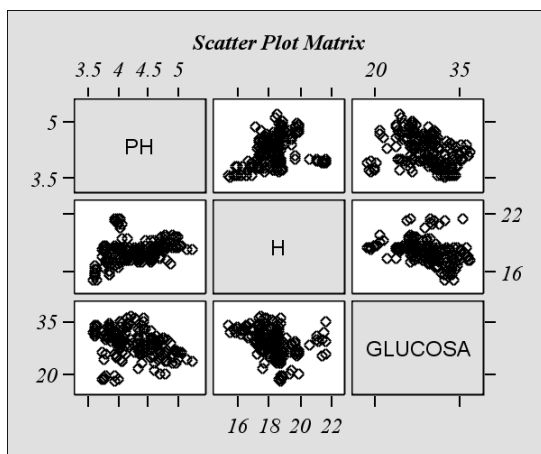


Figura 39. Correlación entre pH, H, Glucosa de miel.

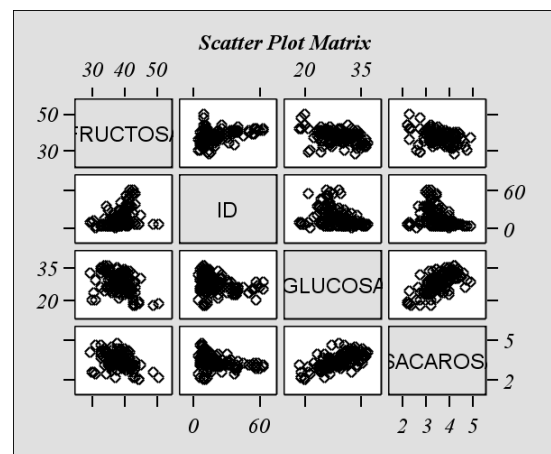


Figura 40. Correlación entre F, G, S, ID de la miel.

## 5.7. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA, CENIZAS Y SÓLIDOS: CORRELACIÓN CON OTROS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

**Tabla 36.** Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p

<b>Variables relacionadas</b>	<b>Coefficiente de correlación de Pearson</b>	<b>Valor p</b>
Conductividad electrica / Cenizas	0,8252	0,0000
Conductividad electrica /Sólidos insolubles	-0,3634	0,0000
Conductividad electrica / Sólidos totales	-0,5008	0,0000
Conductividad electrica / pH	0,7553	0,0000
Conductividad electrica / Acidez libre	0,3336	0,0000
Conductividad electrica / Acidez lactonas	-0,4507	0,0000
Conductividad electrica / Actividad agua	0,3099	0,0000
Conductividad electrica / Glucosa	-0,4876	0,0000
Conductividad electrica / Sacarosa	-0,5152	0,0000
Cenizas / Sólidos insolubles	-0,3476	0,0000
Cenizas / Sólidos totales	-0,2215	0,0022
Cenizas / pH	0,7268	0,0000
Cenizas / Acidez libre	0,3676	0,0000
Cenizas / Acidez de lactosas	-0,3381	0,0000
Cenizas / Acidez total	0,2266	0,0017
Cenizas / Azucares totales	-0,5401	0,0000
Cenizas / Glucosa	-0,4414	0,0000
Sólidos insolubles/ Fructosa	-0,2219	0,0021
Sólidos insolubles/Glucosa	0,3374	0,0000
Sólidos insolubles/Sacarosa	0,3429	0,0000
Sólidos insolubles/pH	-0,2940	0,0000
Sólidos totales / Glucosa	0,3568	0,0000
Sólidos totales / Sacarosa	0,3855	0,0000
Sólidos totales / pH	-0,3099	0,0000
Sólidos totales / Acidez lactosas	0,5438	0,0000
Sólidos totales / Azucares totales	0,3557	0,0000

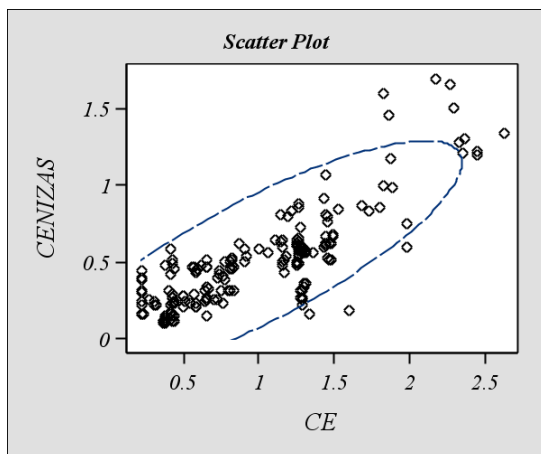
Nota: unicamente se presentó los resultados estadísticamente significativos

Se han buscado correlaciones entre todos los resultados obtenidos de las variables, observándose entre ellas algunos niveles de relación estadística altamente significativos (\*\*) con  $p \leq 0,001$  y muy significativos (\*) con  $p \leq 0,01$ .

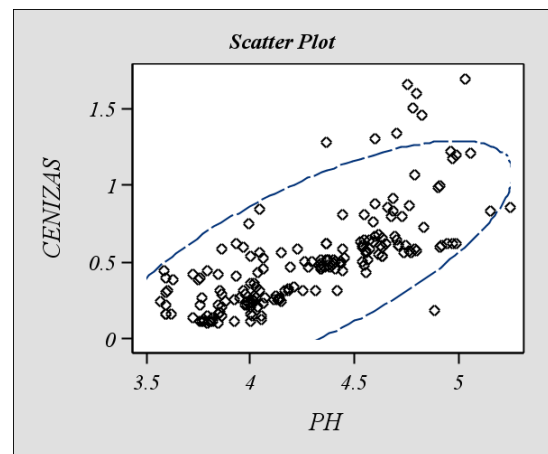
La conductividad eléctrica se correlacionó muy significativamente con el contenido en cenizas (0,8252\*\*), pH (0,7553\*\*), acidez libre (0,3336\*\*). De acuerdo con Crane (1975), la conductividad eléctrica está correlacionada con el contenido en sales minerales y ácidos orgánicos de la miel. Ello también explica la relación estadística muy significativa encontrada entre la acidez libre y el contenido en cenizas (0,3676\*\*).

Se observó también una alta correlación entre el contenido de cenizas y el pH (0,7268\*\*), los sólidos insolubles (-0,3476\*\*). Según Crane (1975), el pH se ve muy condicionado por el contenido en sales minerales, y en mieles de mielada puede aumentar su valor debido al efecto regulador de las sales tampones (Anónimo, 1974).

Los gráficos de dispersión (figuras de 41 al 50) muestran las correlaciones estadísticamente significativas, a través de la regresión lineal entre los parámetros correlacionados.



**Figura 41.** Correlación de Cenizas/CE de la miel.



**Figura 42.** Correlación de Cenizas/pH de la miel.

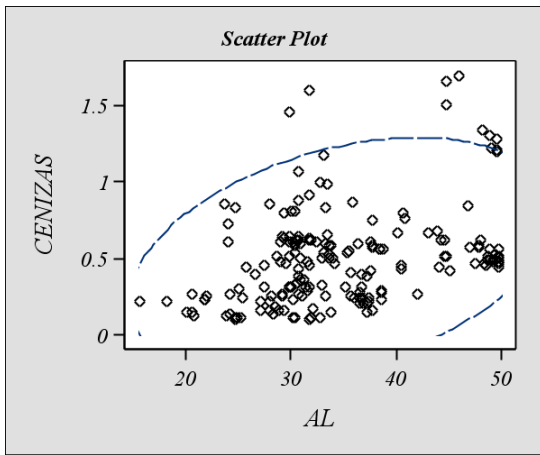


Figura 43. Correlación de Cenizas/AL de la miel.

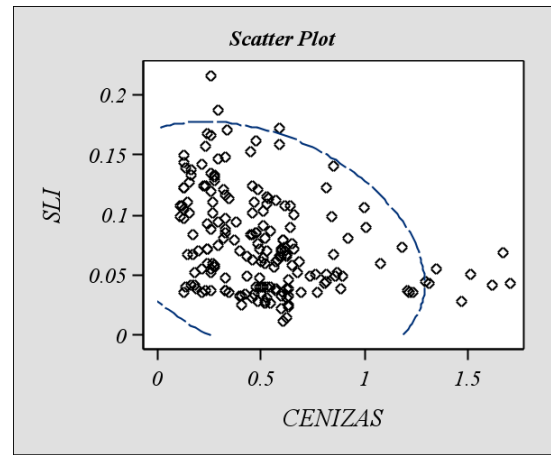


Figura 44. Correlación de Cenizas/AL de la miel.

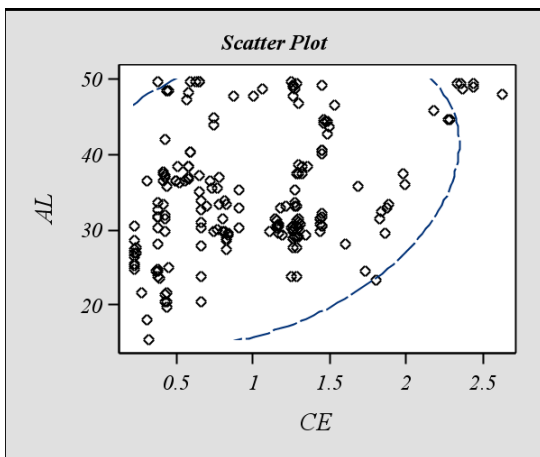


Figura 45. Correlación de CE/ AL de la miel.

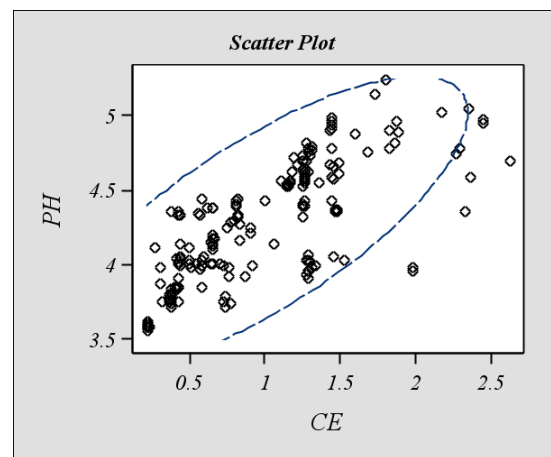


Figura 46. Correlación de CE/ pH de la miel.

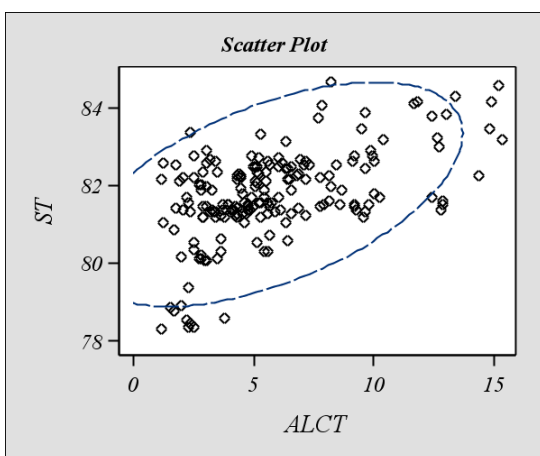


Figura 47. Correlación de ST/ ALCT de la miel.

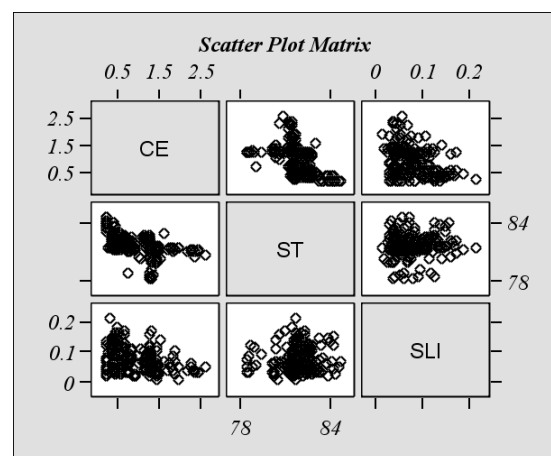
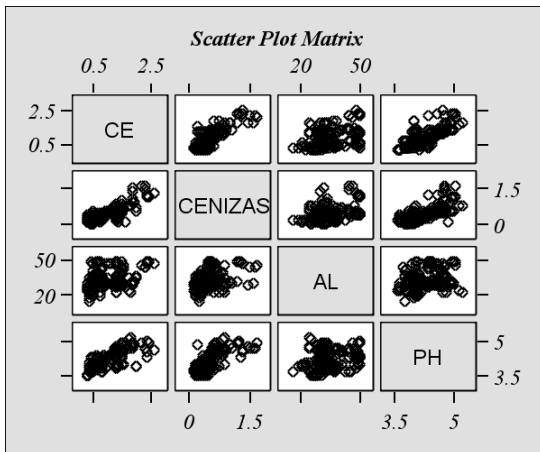
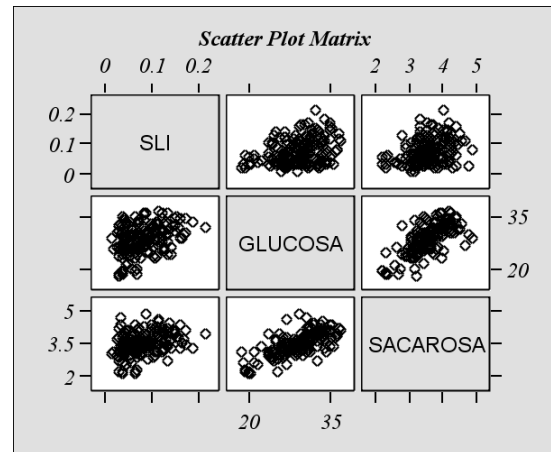


Figura 48. Correlación de CE/ ST/SLI de la miel.



**Figura 49.** Correlación de CE/Cenizas/AL/pH de la miel.



**Figura 50.** Correlación de SLI/G/S de la miel.

## 5.8. ACIDEZ Y PH: CORRELACIÓN CON OTROS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

**Tabla 37.** Coeficiente de correlación de Pearson entre variables relacionadas con acidez y el valor de p

<b>Variables relacionadas</b>	<b>Coefficiente de correlación de Pearson</b>	<b>Valor p</b>
Acidez libre /Acidez lactonas	-0,1235	0,0905
Acidez libre / Relación acidez lactonica y acidez libre	-0,4612	0,0000
Acidez libre /Acidez total	0,9239	0,0000
Acidez libre / Actividad agua	0,0189	0,7959
Acidez libre / Conductividad eletrica	0,3336	0,0000
Acidez libre / Cenizas	0,3677	0,0000
Acidez libre / pH	0,2169	0,0027
Acidez de lactonas / Relación Ac.lactonica y acidez libre	0,9135	0,0000
Acidez de lactonas/ Acidez total	0,2655	0,0002
Acidez de lactonas /Actividad agua	-0,4775	0,0000
Acidez de lactonas /Conductividad eletrica	-0,4507	0,0000
Acidez de lactonas / Cenizas	-0,3381	0,0000
Acidez de lactonas / pH	-0,5047	0,0000
Relación Ac.lactonica y acidez libre / Acidez total	-0,0959	0,1891
Relación Ac.lactonica y acidez libre / Actividad agua	-0,4779	0,0000
Relación Ac.lactonica y acidez libre/Cond. electrica	-0,5289	0,0000
Relación Ac.lactonica y acidez libre / Cenizas	-0,4234	0,0000
Relación Ac.lactonica y acidez libre / pH	-0,5342	0,0000
Acidez total / Actividad agua	-0,1653	0,0231
Acidez total /Conductividad electrica	0,1501	0,0393
Acidez total / Cenizas	0,2266	0,0017
Acidez total / pH	0,0159	0,8278
pH / Actividad agua	0,2683	0,0001
pH / Conductividad agua	0,7552	0,0000
pH / Cenizas	0,7268	0,0000

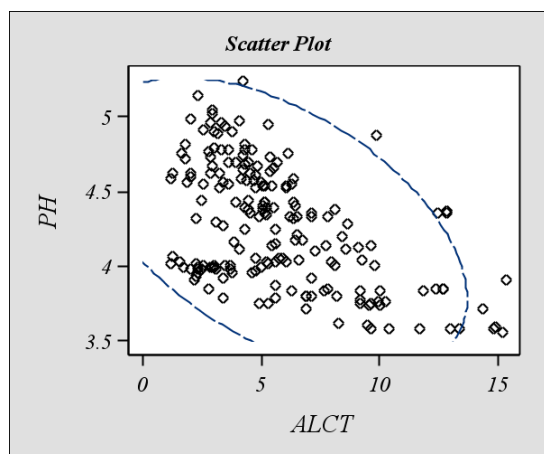
Nota: unicamente se presentó los resultados estadisticamente significativos

Se han buscado correlaciones entre todos los resultados obtenidos de las variables, observándose entre ellas algunos niveles de relación estadística altamente significativos (\*\*) con  $p \leq 0,001$  y muy significativos (\*) con  $p \leq 0,01$ .

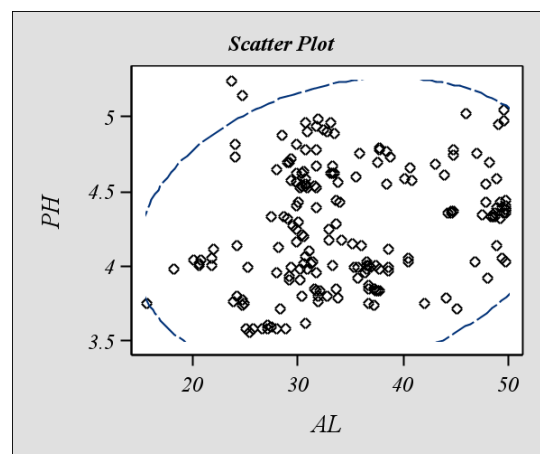
La acidez libre se encontró muy relacionada a nivel altamente significativo con la acidez total ( $0,9239^{**}$ ) y con cenizas ( $0,3677^{**}$ ). Sus valores dependen del origen botánico de la miel, presentando valores superiores las mieles de mielada y sus mezclas (White, 1978; McGregor, 1979).

El pH se encontró relacionado estadísticamente con acidez libre ( $0,2169^*$ ), con acidez lactónica ( $-0,5047^{**}$ ) con actividad agua ( $0,2683^{**}$ ), con la conductividad eléctrica ( $0,7552^{**}$ ) y con cenizas ( $0,7268^{**}$ ). De acuerdo con Crane (1975), el pH se ve muy condicionado por el contenido en sales minerales, y en mieles de mielada puede aumentar su valor debido al efecto regulador de las sales tampones (Anónimo, 1974).

Los gráficos de dispersión (figuras de 51 al 58) muestran las correlaciones estadísticamente significativas, a través de la regresión lineal entre los parámetros correlacionados.



**Figura 51.** Correlación de pH /ALCT de la miel.



**Figura 52.** Correlación de pH /ALCT de la miel.



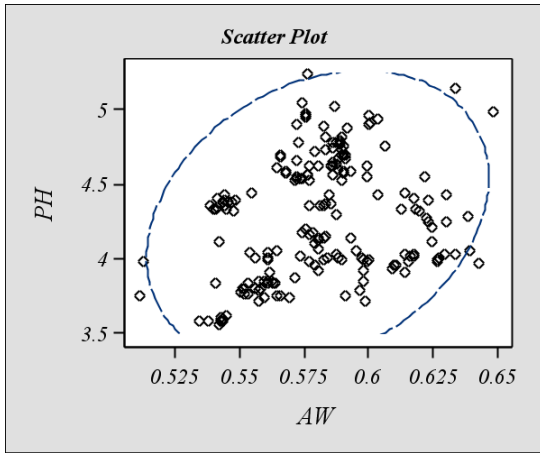


Figura 53. Correlación de pH /Aw de la miel

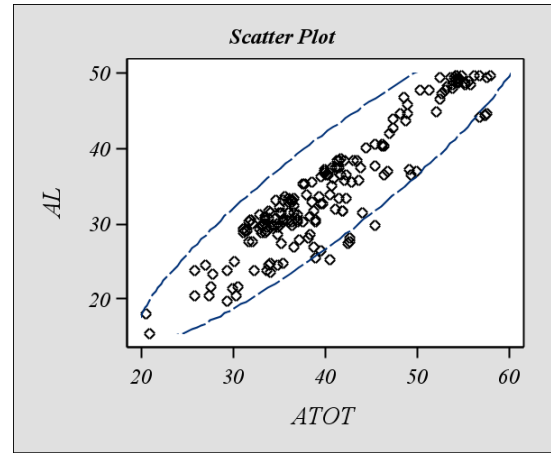


Figura 54. Correlación de AL /ATOT de la miel

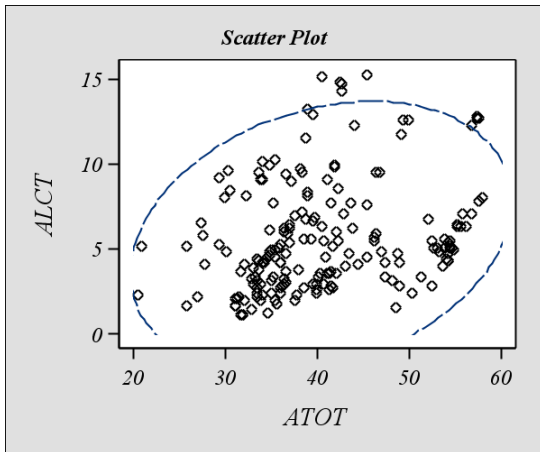


Figura 55. Correlación de ALCT /ATOT de la miel

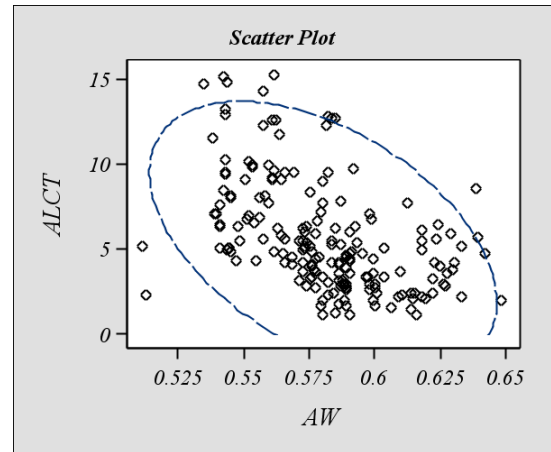


Figura 56. Correlación de ALCT/Aw de la miel

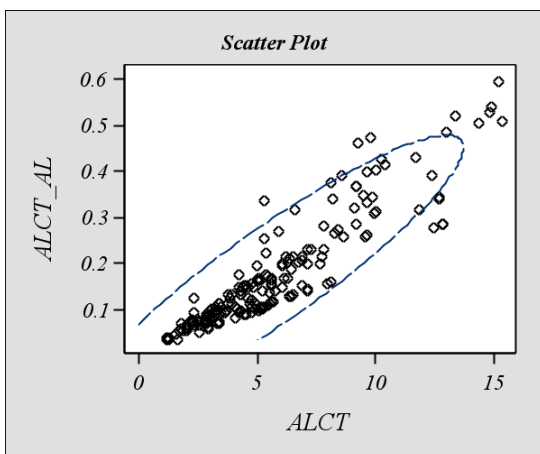


Figura 57. Correlación de RelALCT\_AL /ALCTde la miel

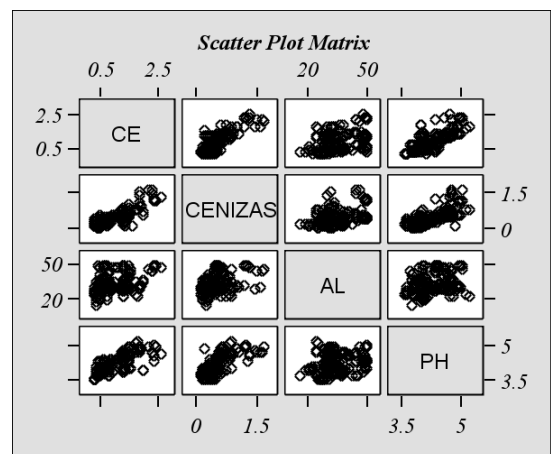


Figura 58. Correlacion CE/CENIZAS/AL/PH

## 5.9. CORRELACIONES ENTRE LOS PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA FRESCURA

**Tabla 38.** Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p

<b>Variables relacionadas</b>	<b>Coefficiente de correlación de Pearson</b>	<b>Valor p</b>
HMF/ Índice de diastasa	-0,1729	0,0173
HMF/ Acidez libre	0,1803	0,0130
HMF/ Acidez total	0,1635	0,0245
HMF/ ΔE color	0,3186	0,0000
HMF/ Glucosa	-0,2156	0,0028
HMF/ Luminosidad	0,2305	0,0014
HMF/ pH	-0,1815	0,0124
HMF/ Sacarosa	-0,2341	0,0011
Índice de diastasa/Acidez libre	0,2115	0,0034
Índice de diastasa / B	-0,2189	0,0024
Índice de diastasa/ Croma	-0,2273	0,0016
Índice de diastasa/ Conductivida electrica	0,4088	0,0000
Índice de diastasa/ Cenizas	0,3421	0,0000
Índice de diastasa/ ΔE color	-0,2141	0,0030
Índice de diastasa/ Fructosa	0,3882	0,0000
Índice de diastasa/ Glucosa	-0,3371	0,0000
Índice de diastasa/ Luminosidad	-0,3064	0,0000
Índice de diastasa/ pH	0,5421	0,0000
Índice de diastasa/ Sacarosa	-0,3671	0,0000
Índice de diastasa/Sólidos insolubles	-0,3382	0,0000

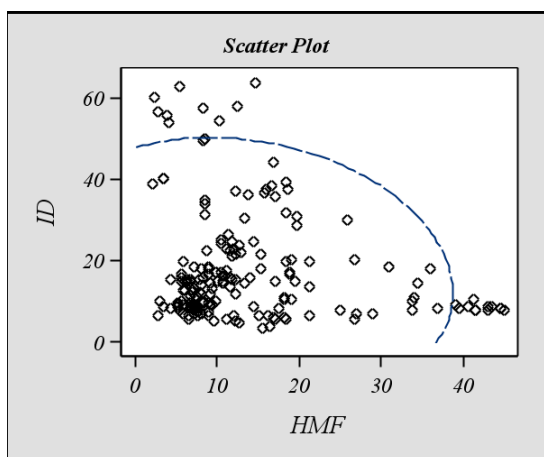
Nota: unicamente se presentó los resultados estadísticamente significativos

Se han buscado correlaciones entre todos los resultados obtenidos de las variables, observándose entre ellas algunos niveles de relación estadística altamente significativos (\*\*) con  $p \leq 0,001$  y muy significativos (\*) con  $p \leq 0,01$ .

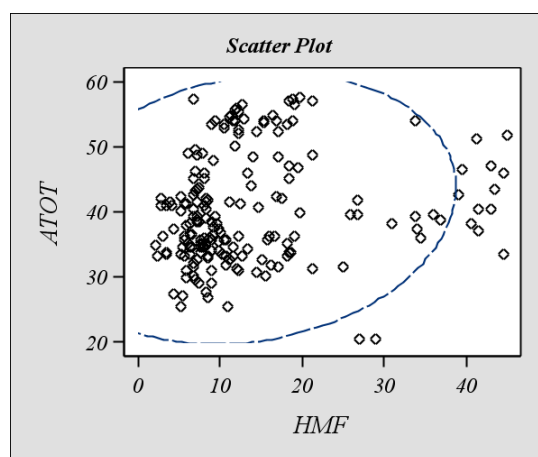
Se encontró una correlación significativa entre el hidroximetilfural y la actividad diastásica (-0,1729\*) y el color (-0,2141\*), debido a que al envejecer o sufrir tratamientos con color, disminuye la actividad enzimática y aumentan el contenido en hidroximetilfurfural y el color de las mieles.

Una correlación altamente significativa se observó entre la actividad diastasa y la sacarosa (0,3671\*\*), indicativo de que, según White et al. (1961), al envejecer las mieles disminuye su contenido enzimático y aumenta su contenido en sacarosa.

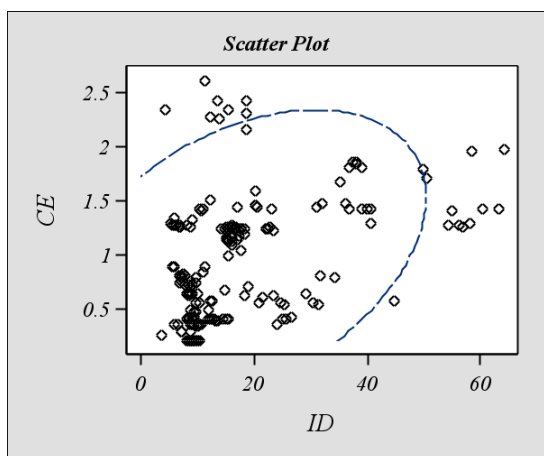
Los gráficos de dispersión representados en las (figuras de 59 al 64) muestran las correlaciones estadísticamente significativas, a través de la regresión lineal entre los parámetros correlacionados.



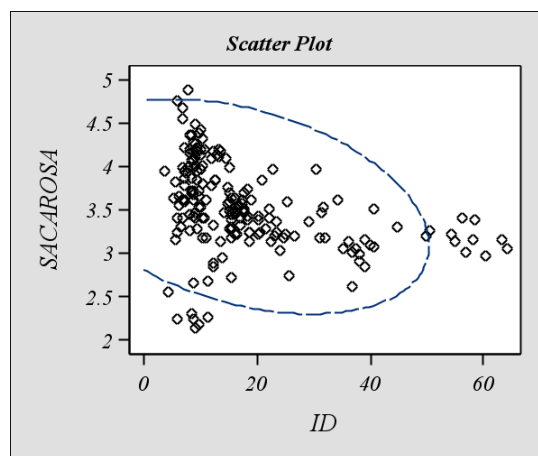
**Figura 59.** Correlación ID/HMF de la miel.



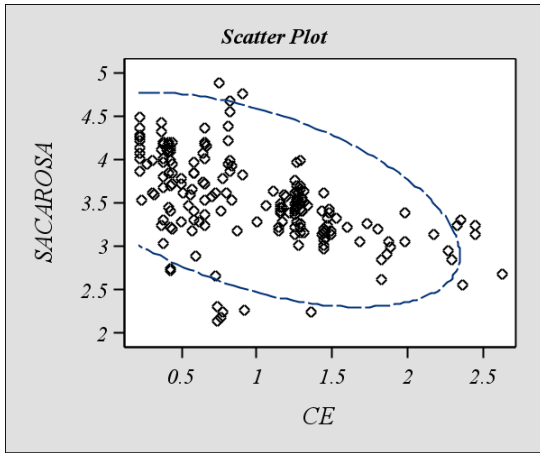
**Figura 60.** Correlación ATOT/HMF de la miel.



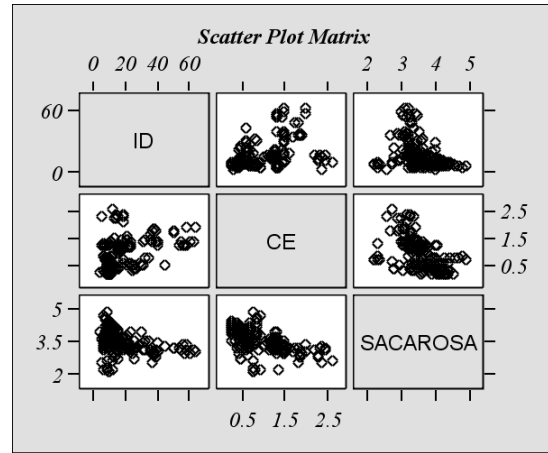
**Figura 61.** Correlación CE/ID de la miel.



**Figura 62.** Correlación CE/ID de la miel.



**Figura 63.** Correlación Sacarosa/CE la miel.



**Figura 64.** Correlación ID/CE/Sacarosa de la miel.

## 5.10. CORRELACIONES ENTRE LOS PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL COLOR DE LA MIEL.

**Tabla 39.** Coeficiente de correlación de Pearson entre variables y valor de p

<b>Variables relacionadas</b>	<b>Coefficiente de correlación de Pearson</b>	<b>Valor p</b>
Luminosidad / A	0,2870	0,0000
Luminosidad / B	0,8592	0,0000
Luminosidad / Cenizas	-0,4119	0,0000
Luminosidad / Conductividad eléctrica	-0,4632	0,0000
Luminosidad / Croma	0,8088	0,0000
Luminosidad / Hidroximetilfurfural	0,2305	0,0014
Luminosidad / Indice de diastasa	-0,3064	0,0000
Luminosidad / DeltaE	0,9970	0,0000
DeltaE / A	0,3559	0,0000
DeltaE / B	0,8937	0,0000
DeltaE / Croma	0,8498	0,0000
DeltaE / Conductividad eléctrica	-0,4460	0,0000
DeltaE / Cenizas	-0,4062	0,0000
DeltaE / Hidroximetilfurfural	0,2611	0,0002
DeltaE / Indice de diastasa	-0,2972	0,0000
Croma /A	0,7351	0,0000
Croma / B	0,9757	0,0000
Croma / Conductividad eléctrica	-0,2638	0,0002
Croma / Cenizas	-0,2684	0,0001
Croma / Tono	0,1627	0,0252
Croma / Hidroximetilfurfural	0,3962	0,0000
Tono / B	0,1911	0,0084
Tono / Saturación	0,1973	0,0065
B/ Hidroximetilfurfural	0,3392	0,0000
B / Conductividad eléctrica	-0,2972	0,0000
B / Cenizas	-0,3437	0,0000

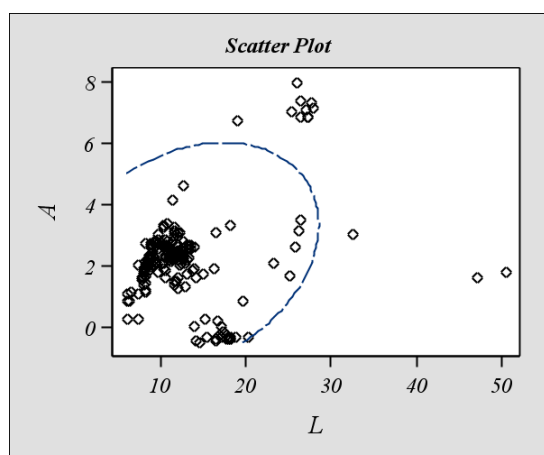
Nota: unicamente se presentó los resultados estadísticamente significativos

Se han buscado correlaciones entre todos los resultados obtenidos de las variables, observándose entre ellas algunos niveles de relación estadística altamente significativos (\*\*) con  $p \leq 0,001$  y muy significativos (\*) con  $p \leq 0,01$ .

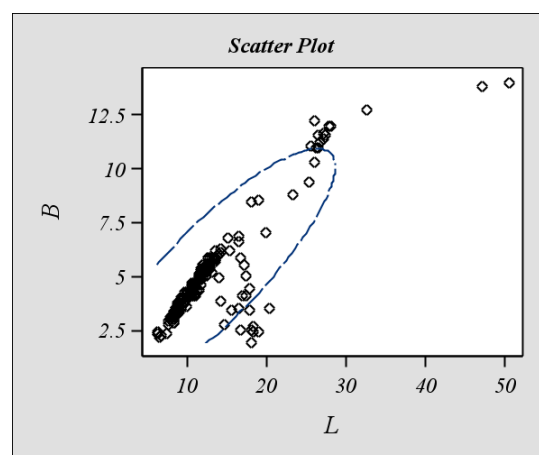
Los parámetros del color se encontraron altamente correlacionados con hidroximetilfurfural con luminosidad (0,2305\*\*), DELTAE (0,2611\*\*), con croma (0,3962\*\*) y con  $b^*$  (0,3392\*\*) lo que concuerda con los estudios realizados por White y Siciliano, (1980); Jeuring y Koppers, (1980); y Frías y Hardisson, (1992), en los que se concluye que el envejecimiento y el calentamiento de la miel hacen aumentar estos parámetros.

El color (luminosidad (-0,4632\*\*), DELTAE (-4460\*\*), con croma (-2638\*\*) y con  $b^*$  (-2972\*\*) se encontró correlacionado con la conductividad eléctrica, relación contrastada por Frías y Hardisson, (1992) y Gómez, (1995), que detectaron que mieles con altos niveles de minerales, presentaron conductividades eléctricas mayores y fueron más oscuras. Según Huidobro y Simal (1984e), el oscurecimiento de la miel se debe a la combinación aminoácido aldehído de ciertas sustancias con sales minerales, entre otras.

Los gráficos de dispersión (figuras 65 al 82) muestran las correlaciones estadísticamente significativas, a través de la regresión lineal entre los parámetros correlacionados.



**Figura 65.** Correlación de rojo (A) /L de la miel.



**Figura 66.** Correlación de amarillo (B) /L de la miel.

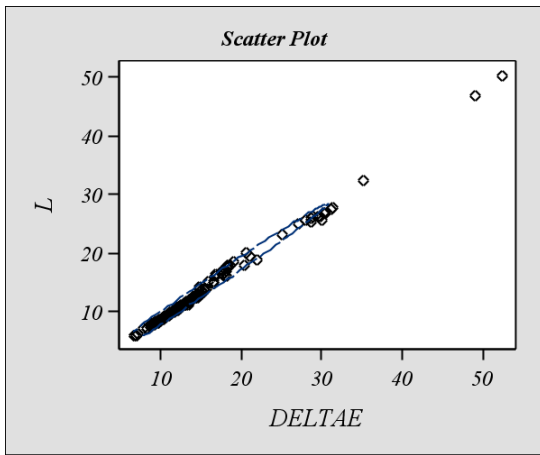


Figura 67. Correlación de L/DELTAE de la miel.

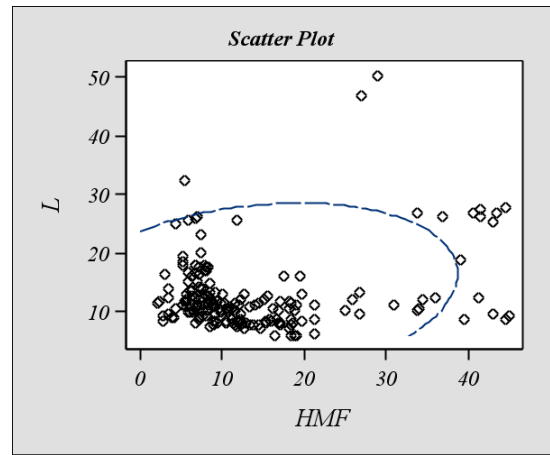


Figura 68. Correlación de L/HMF de la miel.

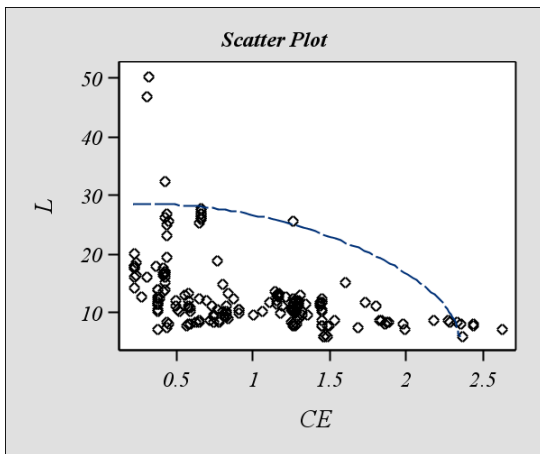


Figura 69. Correlación de L/CE de la miel.

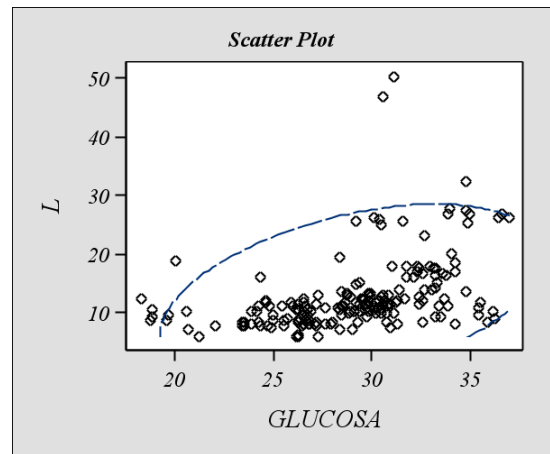


Figura 70. Correlación de L/Glucosa de la miel.

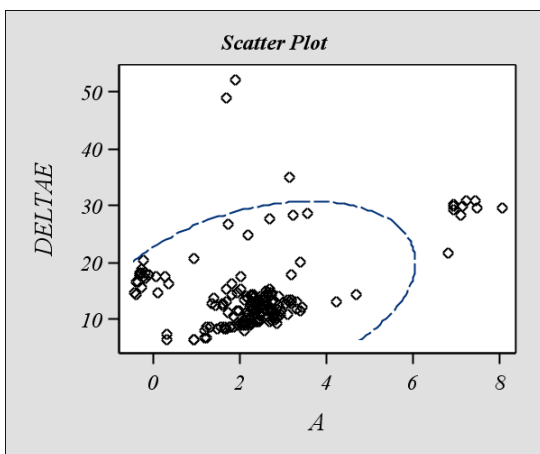


Figura 71. Correlación de DELTAE/rojo (A) la miel.

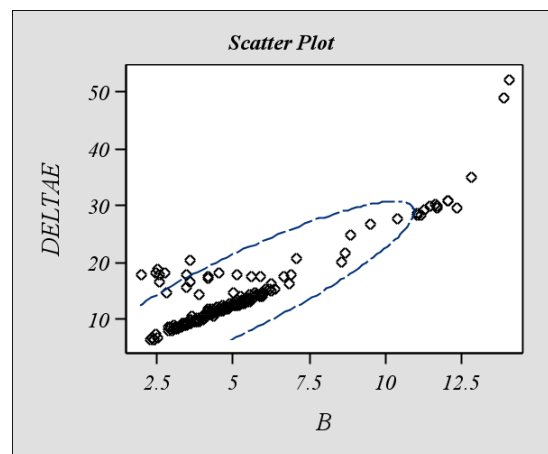


Figura 72. Correlación de DELTAE/B de la miel.

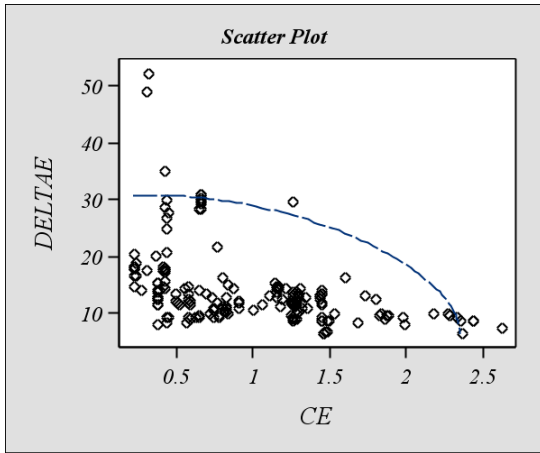


Figura 73. Correlación de DELTA/CE la miel.

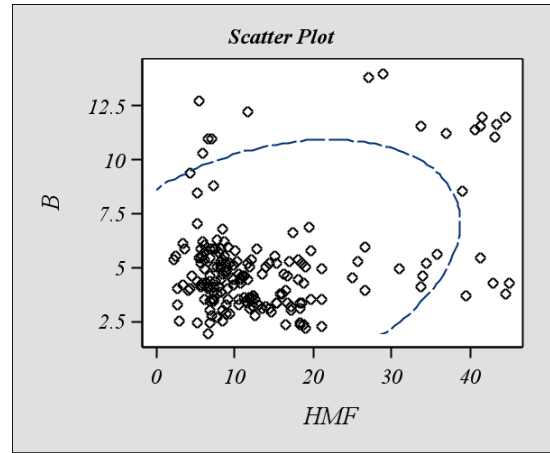


Figura 74. Correlación de B/HMF de la miel.

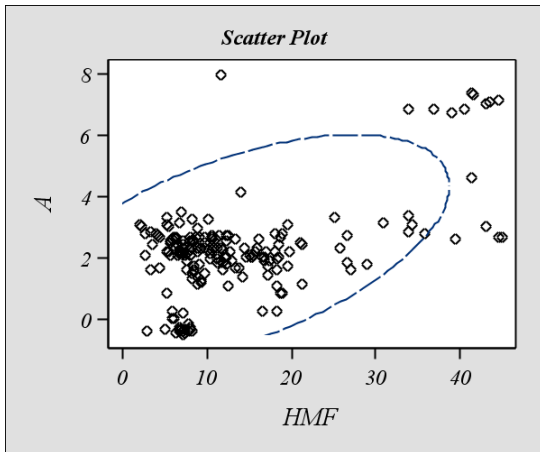


Figura 75. Correlación de rojo (A) /HMF la miel.

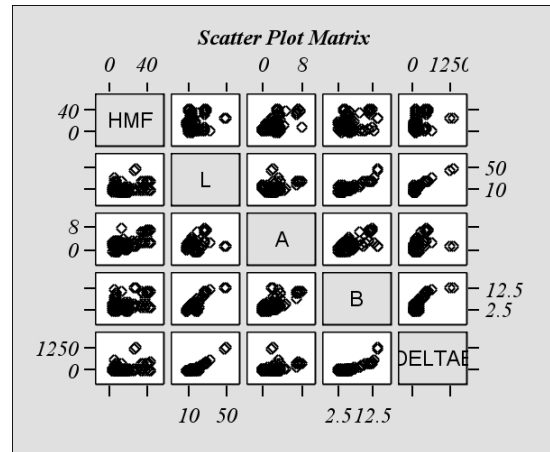


Figura 76. Correlación de HMF/L, A, B de la miel.

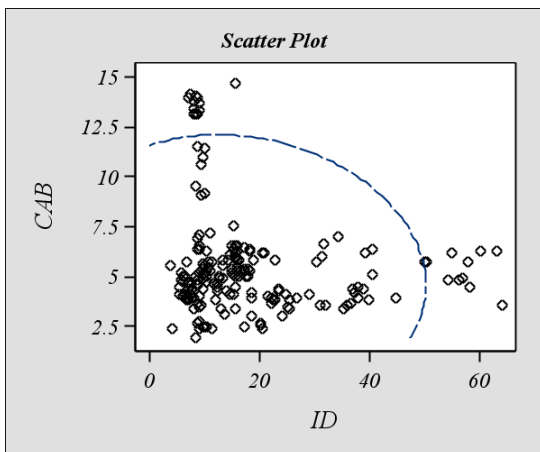


Figura 77. Correlación de cromas /ID de la miel.

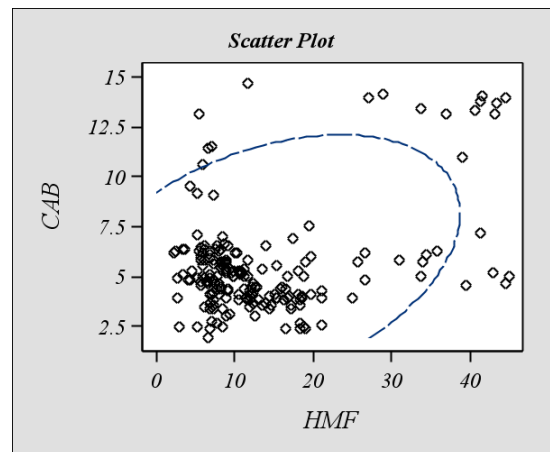


Figura 78. Correlación de CAB /HMF de la miel.



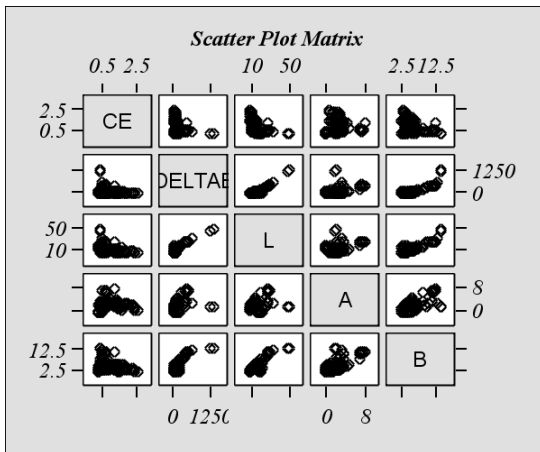


Figura 79. Correlación de CE /L, A, B de la miel.

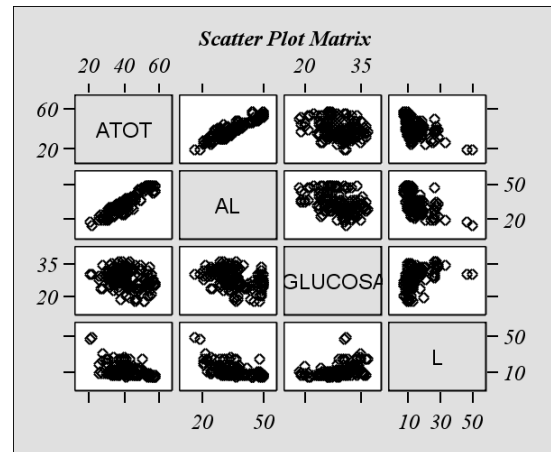


Figura 80. Correlación de ATOT/AL/Glu/L de miel.

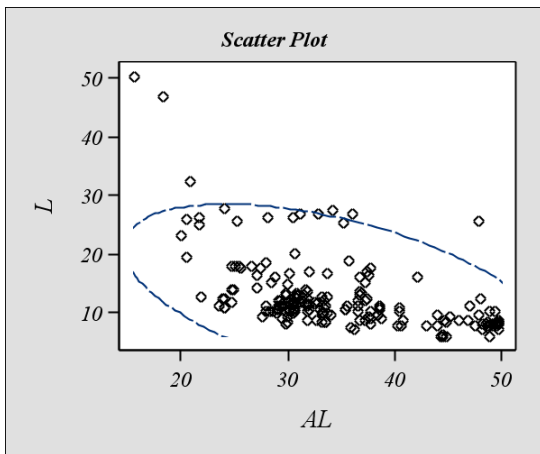


Figura 81. Correlación de L /AL de la miel.

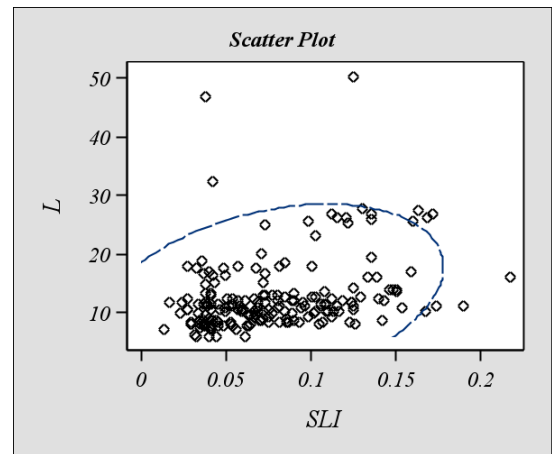


Figura 82. Correlación de L /SLI de la miel.

## 5.11. ANÁLISIS MULTIVARIANTES PARA LA DIFERENCIACIÓN Y/ O CLASIFICACIÓN DE LAS MIELES DE MOZAMBIQUE

Para el análisis de los datos en este estudio, con el fin de clasificar los datos obtenidos para las muestras dentro de sus respectivas regiones de origen, se ha realizado un análisis multivariante de los datos, concretamente un análisis de componentes principales, una clasificación utilizando análisis de conglomerados (clusters) y caracterización de las agrupaciones de las mieles.

### 5.11.1. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

Sobre cada muestra se han determinado un conjunto de variables físico-químicas y un primer objetivo ha consistido en analizar si es posible representar adecuadamente esta información con un número menor de variables construidas como combinaciones lineales de las originales. Por lo tanto, se ha intentado reducir la dimensionalidad de los datos.

#### a) Selección de variables

En este caso se consideraron para la selección, 21 variables físico-químicas estudiadas.

**Variables:** Actividad de Agua, Conductividad Eléctrica, Cenizas, Hidroximetilfurfural, Índice Diastasa, pH, Acidez Libre, Acidez Lactónica, Humedad, Sólidos Totales, Sólidos Insolubles, Fructosa, Glucosa, Sacarosa, Luminosidad, A, B, Croma, Tono, Saturación y DELTAE.

En la Tabla 40 muestra las componentes principales y la inercia, variabilidad explicada para cada componente

**Tabla 40.** Componentes principales con el porcentaje de inercia respectivo

Componente principal	Valor propio	Porcentaje	Porcentaje acumulada
1	6,5691	31,28	31,28
2	4,1292	19,66	50,94
3	1,9840	9,45	60,39
4	1,5835	7,54	67,93
5	1,3464	6,41	74,34
6	1,1216	5,34	79,68
7	1,0136	4,83	84,51
8	0,6448	3,07	87,58
9	0,5421	2,58	90,16
10	0,4500	2,14	92,31
11	0,3736	1,78	94,09
12	0,3338	1,59	95,67
13	0,2856	1,36	97,04
14	0,2568	1,22	98,26
15	0,1486	0,71	98,97
16	0,1086	0,52	99,48
17	0,0830	0,40	99,88
18	0,0228	0,11	99,99
19	0,0027	0,01	100,00
20	0,0000	0,00	100,00
21	0,0000	0,00	100,00

**Variables nominales ilustrativas:** Epoca, Ensayo, Región, Año

**Variables continuas ilustrativas:** ATOT, AZUCAR

El análisis de factores por componentes principales separó, al menos, cinco componentes principales responsables del 74,34%, tal y como se muestra en la (Tabla 40), de la variabilidad de los datos, y teniendo cada uno de ellos, varios factores de peso significativo. Aunque solo se graficó los dos primeros factores para simplificar la interpretación.

## b) Correlación de variables activas con factores

Las coordenadas de variables activas, los factores de correlación de las variables respecto las componentes principales se muestran en la (Tabla 41 y 42). Se observa la significación de las variables ilustrativas categoricas respecto los componentes principales y su representación gráfica se refleja en las figuras 83 y 84.

**Tabla 41.** Coordenadas de variables activas – Factores de Correlación

Variables	Coordenadas de componente principal				
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5
AW	-0,38	-0,39	-0,60	-0,19	0,05
CE	-0,80	-0,21	-0,03	0,33	0,04
CENIZAS	-0,70	-0,08	0,09	0,50	0,20
HMF	0,10	-0,46	0,46	-0,37	0,43
ID	-0,54	-0,05	0,33	0,26	-0,42
PH	-0,68	-0,29	-0,00	0,57	0,06
AL	-0,54	0,12	0,24	-0,15	0,55
ALCT	0,50	0,53	0,22	-0,08	0,13
H	-0,56	-0,49	-0,38	-0,35	-0,27
ST	0,56	0,49	0,38	0,35	0,27
SLI	0,47	-0,24	-0,30	-0,12	0,26
FRUCTOSA	-0,21	0,14	0,56	-0,37	-0,49
GLUCOSA	0,68	0,09	-0,40	0,24	-0,02
SACAROSA	0,65	0,20	-0,46	0,16	0,04
L	0,82	-0,39	0,16	0,16	-0,18
A	0,05	-0,88	0,11	-0,09	0,19
B	0,62	-0,74	0,10	0,10	-0,11
CAB	0,57	-0,78	0,19	0,12	-0,02
HAB	-0,01	-0,25	-0,07	0,23	0,18
SAP	-0,45	-0,63	0,16	-0,02	0,16
DELTAE	0,80	-0,45	0,16	0,15	-0,16

Aw: actividad de agua; CE: conductividad electrica; HMF: hidroximetilfurfural; ID: Indice de diastasa; AL: acidez libre; ALCT: acidez lactonica; H: humedad; ST: sólidos totales; SLI: sólidos insolubles; L: luminosidad; A: rojo/verde; B: amarillo/azul; CAB: croma; HAB: Tono; SAP: saturación; DELTAE: diferencias de color.

**Tabla 42.** Componentes de 1 al 5 respecto las variables cualitativas o categóricas

Modalidades	N	Valor Test				
		1	2	3	4	5
EPOCA 1	112	3,1	-1,3	-5,9	0,8	2,1
EPOCA 2	77	-3,1	1,3	5,9	-0,8	-2,1
ENSAYO 1	37	-3,7	-1,2	6,5	-2,5	2,5
ENSAYO 2	65	1,4	-4,7	-7,2	-0,5	1,7
ENSAYO 3	40	-0,2	2,7	0,7	1,4	-5,0
ENSAYO 4	47	2,0	3,7	1,2	1,5	0,5
A- MANICA	53	3,4	-6,2	3,4	1,8	-0,3
B- SOFALA	37	1,6	5,6	-0,4	3,1	2,9
C- INHAMBANE	57	-4,2	-1,1	-2,5	0,2	-2,5
D- MAPUTO	42	-0,5	2,5	-0,6	-5,1	0,2
ANO 1	37	-3,7	-1,2	6,5	-2,5	2,5
ANO 2	105	1,2	-2,3	-6,3	0,7	-2,4
ANO 3	47	2,0	3,7	1,2	1,5	0,5

En la Tabla 42 se presenta los valores de test por épocas, ensayo, región y año. Observáse que para este test son significativos los valores superiores a 2 absolutos.

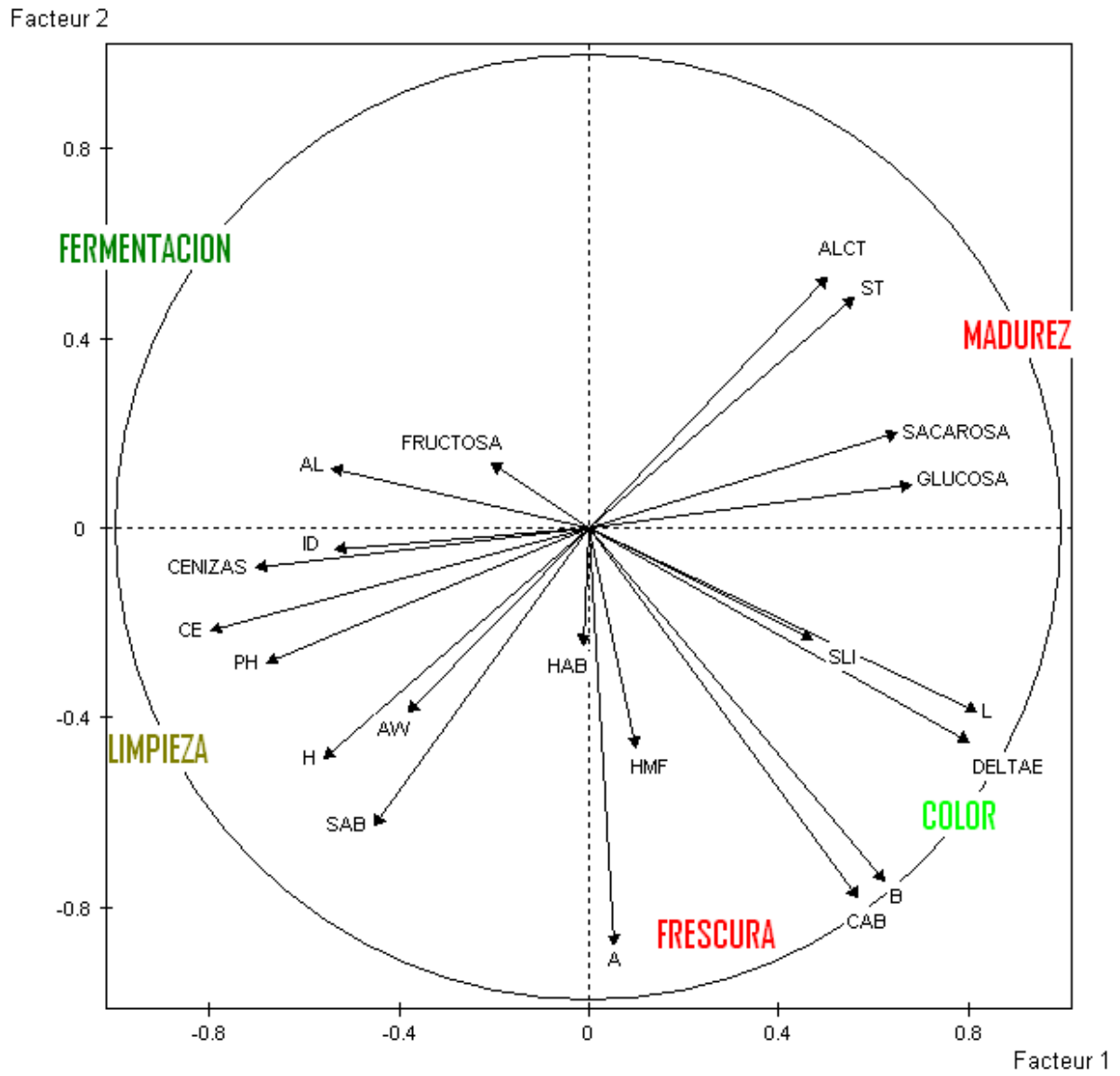
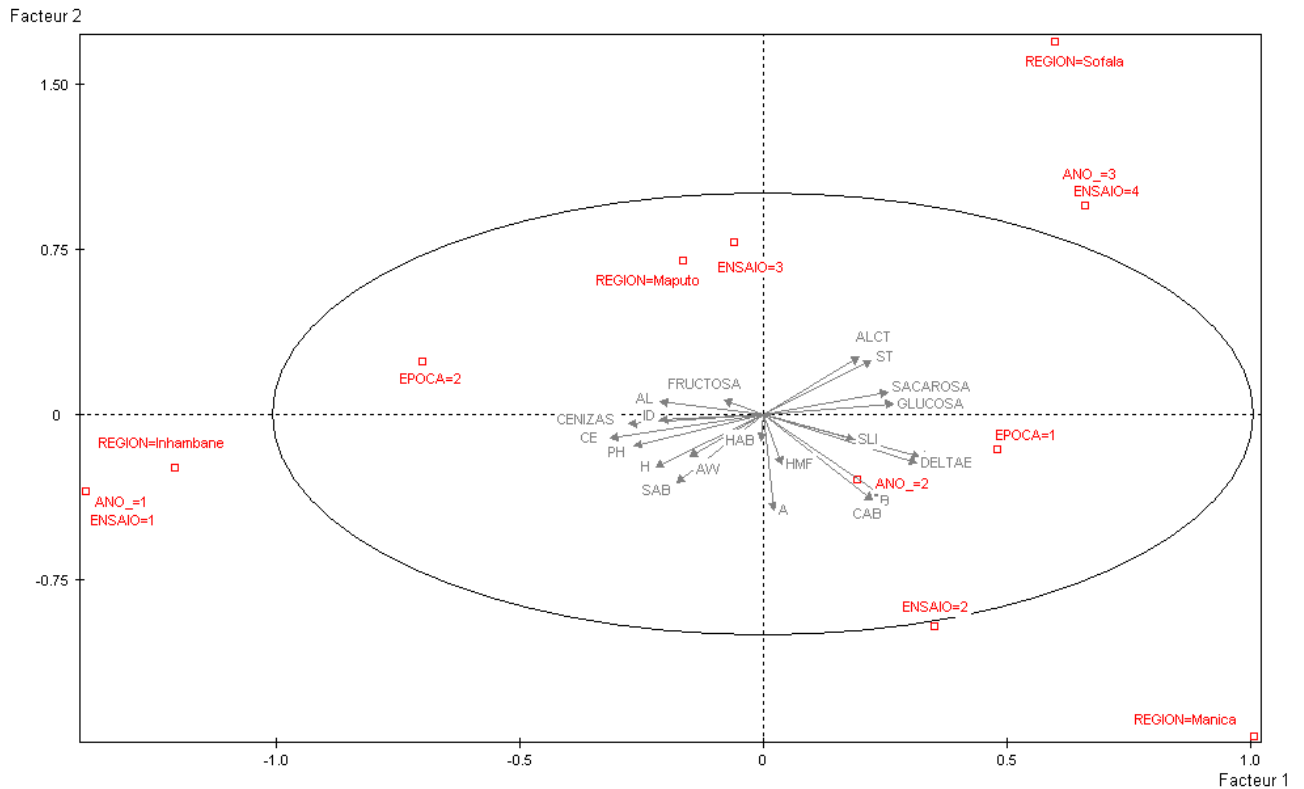


Figura 83. Gráfica de las variables activas estudiadas



**Figura 84.** Gráfica de las variables activas observando regiones y época de recogida

En las Figuras 83 y 84 se representan gráficamente las variables del estudio y las variables por regiones y por épocas. Se puede observar que la segunda época del año 2004 (ensayo 1) los valores de pH, Cenizas, Conductividad Eléctrica (CE), Humedad (H), Índice de Diastasa (ID), Actividad de Agua (Aw), Saturación (SAB) y Tono (HAB) son más elevados y presenta valores bajos de Acidez láctica (ALCT), Sólidos Totales (ST), Sacarosa, Glucosa y corresponde a Inhambane. La segunda época del año 2005 (ensayo 3) presenta valores más altos de Acidez libre (AL) y Fructosa y bajos de color (L, B, CAB, A, DELTAE), Hidroximetilfurfural (HMF), Sólidos Insolubles (SLI) que corresponden a Maputo. En la primera época del año 2005 (ensayo 2) presenta valores Hidroximetilfurfural, Sólidos Insolubles y parámetros de color (L, B, CAB, A, DELTAE) más elevados y valores más bajos de fructosa y Acidez Libre corresponden a Manica. Y la primera época del año 2006 (ensayo 4) presenta valores más elevados de Acidez láctica, Glucosa, Sacarosa y valores bajos Cenizas, Conductividad eléctrica, pH, Humedad, Actividad de agua, Índice diastasa, Tono y Saturación correspondiente a la región de Sofala.

En general, el año 2004 se caracterizó por tener valores más elevados de parámetros relacionados con limpieza, lo que podría significar que estas mieles de la región de Inhambane son poco limpias pero presentan valores relacionados con madurez aceptables. En la primera época de 2005 se observa valores más elevados de parámetros relacionados con el color y frescura, se puede decir que estas mieles se caracterizan en ser más claras que el resto de las regiones factor que puede estar relacionado con la flora local daí a atribuir como características de la región Manica. En la segunda época del año 2005 fue caracterizado por tener valores poco elevados de parámetros relacionados con la fermentación pero otros valores normales, podemos decir que estamos perante a mieles con tendencias a fermentar, así como puede ser una característica de la región Maputo. En el año 2006, se caracterizó por valores elevados de parámetros relacionados con madurez característica de mieles maduras pero con valores poco elevados Acidez láctica, que podría haber un riesgo de fermentación de estas mieles de la región Sofala.

Varios han sido los autores que aplicando el análisis discriminantes a diferentes variables físico-químicas, han logrado clasificar correctamente las mieles de diferentes zonas, como es el caso de Sancho et al. (1991f) que utilizando este análisis sobre once variables físico-químicas, consiguieron clasificar correctamente las muestras en un 83% de los casos. Las cinco variables que mejor discriminaron fueron: la acidez total, índice de formol, sacarosa, relación fructosa /glucosa e índice (glucosa-agua)/fructosa; obteniendo con estas variables una función discriminante que clasificaba correctamente las muestras en un porcentaje del 77,4%.

Salinas et al. (1994a) aplicando el análisis discriminante en 92 mieles extremeñas, seleccionaron las variables humedad, conductividad eléctrica, pureza de color, fructosa, isomaltosa y acidez libre, como la mejor combinación que distinguía entre los grupos de mieles establecidos según su origen botánico (eucalipto, girasol, mela, Echium y brezo), obteniendo un 78,7% de asignación correcta.

Sauri y Hernández (1994), obtuvieron mediante el análisis multifactorial discriminante de las concentraciones de los minerales calcio, magnesio y potasio de las mieles de Tahonal y Tzi'Tzi'Che (Mexico), una función discriminante que permitía hacer una clasificación correcta de las mieles al 100%.



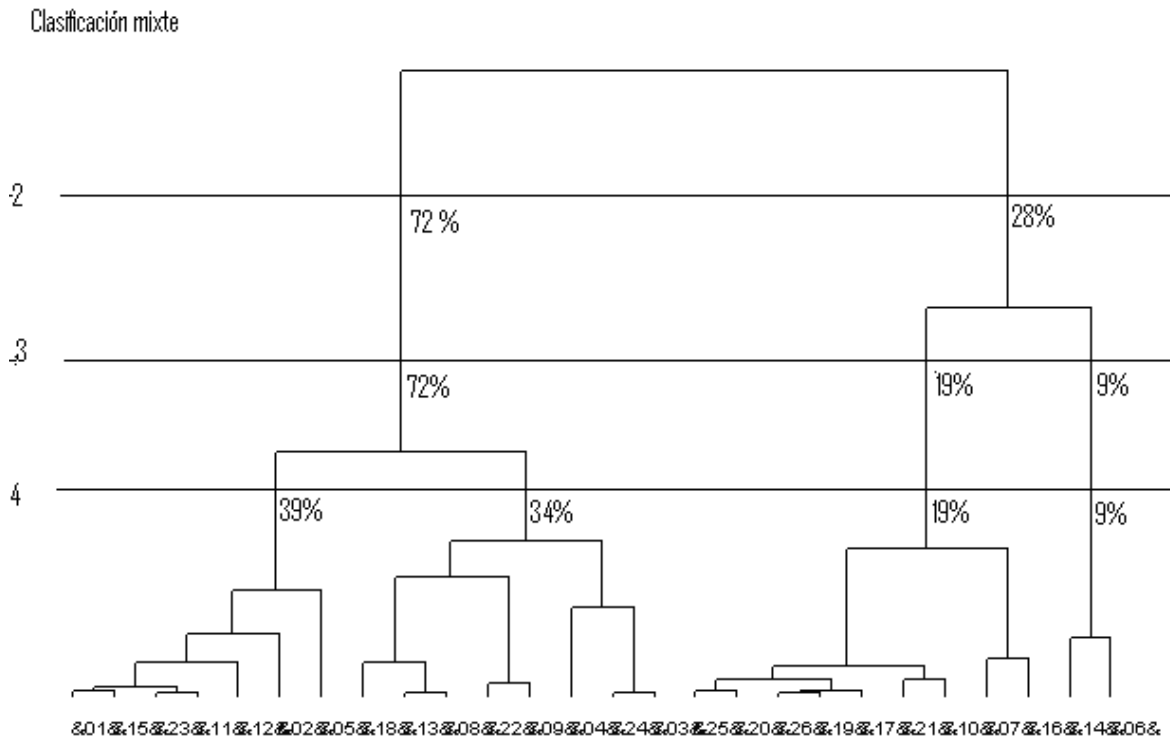
Sanz et al. (1995b) pudieron distinguir entre mieles del Valle o de la Sierra de la Rioja en un 83% de los casos, aplicando el análisis estadístico multivariable a trece parámetros físico-químicos estudiados. Las variables seleccionadas fueron la acidez libre, pH, conductividad eléctrica, contenido en cenizas, y los índices de frescura: hidroximetilfurfural y actividad diastásica. Con ellas, concluyeron que el estudio del polen no fue necesario para distinguir esta clasificación. También aplicaron otras técnicas estadísticas como el análisis cluster para la diferenciación del origen geográfico, pero resultaron ser menos efectivas.

López et al. (1996) utilizaron diferentes técnicas estadísticas, como el análisis de los componentes principales, análisis cluster, análisis discriminante lineal, KNN (K Nearest Neighbour) y SIMCA (Soft Independent Modelling of Class Analogy) para distinguir las mieles procesadas de las no procesadas en Galicia. Consiguieron una correcta clasificación en base a dos parámetros: la acidez total y la actividad diastásica; pero considerando que la intensidad del procesado de las muestras debe ser suficiente para generar cambios en estas variables.

Devillers et al. (2004) utilizaron análisis de componentes principales obtuvieron 100% de predicciones con las variables conductividad, pH, acidez libre, y fructosa, glucosa y rafinosa en porcentajes. Hernández et al. (2005) consiguieron clasificar correctamente las muestras de miel utilizando análisis de componentes principales, obtuvieron 69.07% del total.

### **5.11.2. CLASIFICACIÓN MIXTA**

Para la clasificación de las mieles del presente estudio se ha utilizado el dendograma, o árbol jerárquico, que es una representación gráfica del resultado de proceso de agrupamiento en forma de árbol por tal de elegir el número de grupos de clasificación. En la parte inferior del gráfico se disponen de todas las muestras de mieles (Figura 85).



**Figura 85.** Gráfica dendograma respecto las muestras de miel.

En la figura 85 se representa el resultado del proceso de agrupamiento de las muestras de miel, que lo ideal es que haya poca variabilidad dentro de cada grupo y mucha entre los grupos. En nuestro caso hay la posibilidad de realizar 4 grupos.

**Tabla 43.** Ejes de valores de test de 1 al 5 de los grupos obtenidos.

Classes	N	Valor Test de los factores				
		1	2	3	4	5
CLASSE 1	76	-1,3	-2,7	-8,1	-2,5	0,6
CLASSE 2	62	-9,3	1,0	6,7	1,8	-0,5
CLASSE 3	36	6,8	8,0	0,2	-0,9	-0,3
CLASSE 4	15	8,4	-7,8	2,4	2,5	0,2

En la (Tabla 43) están representados los ejes de las componentes principales, obtenidos por grupos. Se puede observar que en el primer eje son significativos los grupos 2, 3 y 4, mientras que en el segundo, son significativos los grupos 1, 3, 4 (son mayores que dos en valor absoluto).

### 5.11.3. CARACTERIZACIÓN DE CADA GRUPO

Los resultados estadísticos de la caracterización cada grupo se muestran en la Tablas 44, 45, 46 y 47 y su representación gráfica en la figura 86.

**Tabla 44.** Estadística descriptiva de las variables positivas estudiadas en grupo 1.

<b>Variables</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>
Aw	76	0,60	0,02
H	76	18,56	1,16

N: numeros de muestras de los clústers generados; Aw: actividad de agua; H: humedad

**La clase 1** observó valores altos de Actividad de agua y Humedad con (valor de test significativo y positivo) y en cambio, con contenidos de Acidez total, Acidez libre, Acidez láctica, Índice de diastasa, Sólidos totales, Fructosa y color (deltae y L) bajos valores de test negativos. Se caracterizó por un 53,57% de las observaciones de mieles recogidas en la época 1 y el 55,38% de las observaciones son mieles recogidas en la primera época de 2005. En cambio 78,95% de todas observaciones de la época 2 están en la clase 1 (2004). De la clase 1 21,62% de muestras son de Sofala. Se puede decir que la clase 1 se caracteriza por mieles de buena calidad, respecto a la madurez, limpieza y frescura.

**Tabla 45.** Estadística descriptiva de las variables positivas estudiadas en grupo 2.

<b>Variables</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>
AL	62	42,0	7,18
ID	62	28,71	16,48
ATOT	62	47,24	8,34
CENIZAS	62	0,75	0,35
CE	62	1,39	0,58
PH	62	4,52	0,37
FRUCTOSA	62	40,14	3,60
SAP	62	0,48	0,05
H	62	18,57	0,68
HMF	62	16,07	10,54

N: numeros de muestras de los clústers generados; AL: Acidez libre; ID: Indice de diastasa; ATOT: Acidez total  
CE: Conductividad electrica; SAB: Saturación; H: Humedad; HMF: Hidroximetilfurfural.

La **clase 2** está formado por valores altos del contenido en Acidez libre, Indice de diastasa, Humedad, Cenizas, Conductividad eléctrica, pH, Fructosa, Hidroximetilfurfural, Saturación (valor de test significativo y positivo) y en cambio, con contenidos de Sólidos totales, Cromo, B, Sólidos insolubles, Sacarosa y glucosa y color (valores de test negativos). Se caracteriza por mieles de calidad aceptable.

El 81,08% de las observaciones de la clase 2, estan formados por mieles recogidas en en el año 2004 correspondiente a la época 2. En cambio el 57,14% de las observaciones están formadas por mieles de la época 2 y 24,76% del año 2 (2005). El 15,09% son de Manica.

**Tabla 46.** Estadística discriptiva de las variables positivas estudiadas en grupo 3.

<b>Variables</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Deviación estándar</b>
ALCT	36	10,21	2,86
ST	36	83,06	0,95
SACAROSA	36	4,04	0,30
AZUCARES TOTALES	36	75,02	2,79
GLUCOSA	36	32,01	1,95
DELTA E	36	2,91	0,75
SLI	36	0,09	0,04
L	36	15,35	2,76

N: numeros de muestras de los clústers generados; ALCT: acidez lactonica; ST: sólidos totales; SLI: sólidos insolubles; L: luminosidad.

La **clase 3** está formado por individuos con alto contenido en Acidez lactónica, Sólidos totales, Sacarosa, Azúcares totales, Glucosa, Sólidos insolubles, Luminosidad (valor de test significativo y positivo) y en cambio, con contenidos de Indice de diastasa, Hidroximetilfurfural, Acidez libre, Cenizas, Actividadada de agua, Humedad, Conductividad eléctrica, pH, color rojo y Saturación no elevados (valores test negativos). Es decir que la clase 3 se caracteriza por mieles con un grado de frescura bueno y calidad aceptable.

El 51,35% de las observaciones de la clase 3, estan formados por mieles que se han recogido en la región de Sofala y representa 57,58 de todas las observaciones de la clase 3.

El 36,17 de las observaciones de la clase 3 son mieles recogidas en 2006 año 3 y 36,17 de la clase 3 son formados por mieles del ensayo 4 que es el mismo que decir que la mayoría de las observaciones de la clase 3 son mieles de del ensayo 4 en 2006. En cambio 35 % de las observaciones de la clase 3, están formados por mieles recogidas en el ensayo 3 y un 42,12 % de todas las observaciones recogidas en ensayo 3 en 2005.

**Tabla 47.** Estadística descriptiva de las variables positivas estudiadas en grupo 4.

Variables	N	Media	Desviación estándar
B	15	11,56	1,29
CAB	15	12,79	1,62
DELTAE	15	32,02	7,15
L	15	29,26	7,35
A	15	4,99	2,42
LOGPCA	15	3,49	0,50
HMF	15	25,15	16,04
GLUCOSA	15	33,09	2,46
SLI	15	0,12	0,04
SACAROSA	15	3,87	0,50
AZUZARES TOTALES	15	71,00	4,22

N: numeros de muestras de los clústers generados; L: luminosidad; A: color rojo; B: color amarillo; DELTAE: diferencia de color; CAB: croma; HMF: hidroximetilfurfural; SLI: sólidos insolubles

La **clase 4** está formado por individuos con elevados valores en: color (DELTAE, A, B, L, CAB), Hidroximetilfurfural, Glucosa, Sacarosa, Sólidos insolubles, Azucares totales (valor de test significativo y positivo) y en cambio, con contenidos de Indice diastasa, Fructosa, Cenizas, Conductivida eléctrica, Acidez total, Acidez libre no elevados (valores test negativos). Se puede decir que la Clase 4 se caracteriza por mieles con un color más claro relativamente a las muestras del presente estudio y presentan un grado de frescura aceptable y son mieles más limpias.

El 30,19% de las observaciones de la clase 4, estan formados por mieles que se han recogido en el la región de Manica. El 94,12% del total de las observaciones de la clase 4 son mieles recogidas en Manica. Un 21,54% de la clase 4 son del ensayo 2 primera época 2005 y

82,35% de todas las observaciones son del ensayo 2. En cambio el resto están distribuidos en el ensayo 4 y en la región de Inhambane.

En resumen podemos decir que para mieles de Mozambique del presente estudio encontramos 4 grupos de clasificación.

**Categoría A o Clase 1:** Mieles con altos valores de humedad y de actividad de agua, estadísticamente significativos, que corresponden a mieles de buena calidad, respecto a la madurez, limpieza y frescura.

**Categoría B o Clase 2:** Mieles con altos valores de acidez libre, índice de diastasa, humedad, acidez total, cenizas, conductividad eléctrica, fructosa que corresponden a mieles de calidad aceptable.

**Categoría C o Clase 3:** Mieles con alto contenido de acidez láctica, sólidos totales, sacarosa, glucosa, sólidos insolubles que corresponden a mieles maduras pero con posible riesgo de fermentación.

**Categoría D o Clase 4:** Mieles con altos valores de color rojo y hidroximetilfurfural que puede ser una característica de la región.

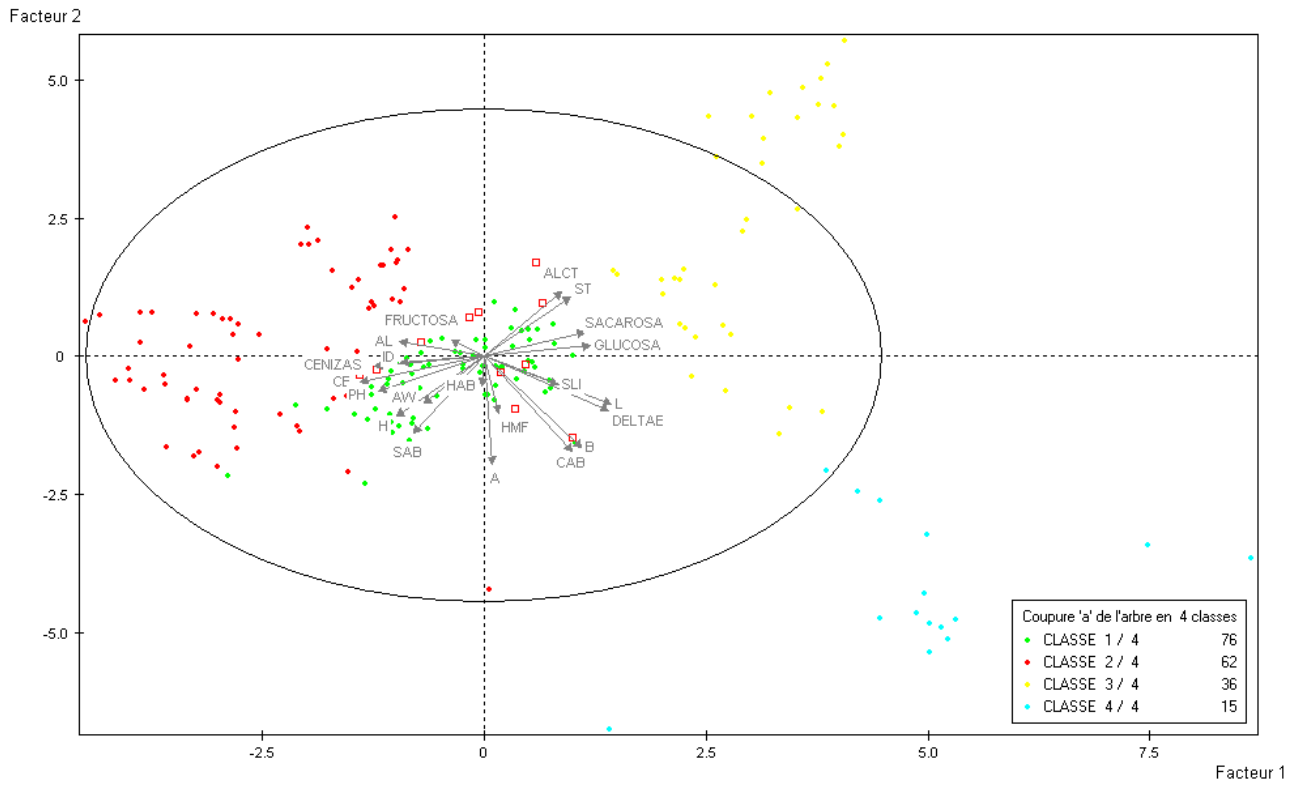


Figura 86. Gráfica de clasificación y distribución de las muestras de miel.

## **VI. CONCLUSIONES**









## VI. CONCLUSIONES

### PRIMERA

El sistema de producción de miel mayoritario en Mozambique es mediante colmenas tradicionales y de transición. La mayoría de los apicultores usan equipos convencionales para la obtención de miel y el método de extracción más usado es el prensado. La comercialización se realiza tanto con el producto envasado como a granel, siendo las características higiénico-sanitarias de los apicultores aceptables, pero con necesidad de mejorar las condiciones de producción de los pequeños artesanos.

### SEGUNDA

El 95% de las muestras estudiadas presentaron un recuento  $\geq 1$  log ufc/g para microorganismos aerobios mesófilos y un 85% del total presentaron  $\geq 2$  log ufc/g en el recuento de mohos y levaduras. No se detectó la presencia de *Enterobacteriaceae* y de clostridios sulfitos reductores en ninguna de las muestras.

### TERCERA

Los valores obtenidos de humedad, actividad de agua y pH indican que las mieles estudiadas corresponden a un producto estable y de bajo riesgo sanitario, e indican que el momento de su extracción y de madurez son adecuados. La región de Maputo se diferenció de las otras regiones al presentar valores de humedad superiores

### CUARTA

La concentración de sacarosa en la mayoría de las muestras indica un adecuado grado de madurez de las mismas y permite excluir la posibilidad de una alimentación artificial excesiva mediante jarabe de azúcar en un tiempo previo a la cata.

## QUINTA

Los valores de pH, conductividad eléctrica y contenido en cenizas obtenidos permiten deducir que en general se trata de mieles de origen típicamente floral, a pesar de que un 32,27% de las muestras de mieles presentaban un valor de  $\text{pH} > 4,5$ , que podrían ser consideradas mieles de mielada, siendo los otros valores normales para el tipo de extracción.

## SEXTA

Los resultados de hidroximetilfurfural y de índice de diastasa de todas las muestras analizadas indican un grado de frescura aceptable para mieles procedentes de regiones de clima tropical como es el caso de Mozambique. Estos resultados presentan una relación estadísticamente inversa entre ambos y una correlación positiva entre el contenido en hidroximetilfurfural y el color de la miel.

## SÉPTIMA

El análisis de factores por componentes principales de las variables físico-químicas, pone de manifiesto que al menos cinco componentes principales (actividad de agua, conductividad eléctrica, cenizas, hidroximetilfurfural y índice de diastasa) son responsables del 74,34% de la variabilidad de los datos.

## OCTAVA

Al aplicar el análisis de conglomerados sobre los resultados obtenidos en cuanto a la composición y calidad, permite la clasificación de las mieles de Mozambique en las siguientes categorías:

**Categoría A:** Mieles con altos valores de humedad y actividad de agua, estadísticamente significativos, que corresponden a mieles de buena calidad, respecto a la madurez, limpieza y frescura.

**Categoría B:** Mieles con altos valores de acidez libre, índice de diastasa, humedad, acidez total, cenizas, conductividad eléctrica, fructosa que corresponden a mieles de calidad aceptable.

**Categoría C:** Mieles con altos valores de acidez láctica, sólidos totales, sacarosa, glucosa, sólidos insolubles que corresponden a mieles con posible riesgo de fermentación.

**Categoría D:** Mieles con altos valores de color e hidróximetilfurfural que corresponden a mieles características de la región.









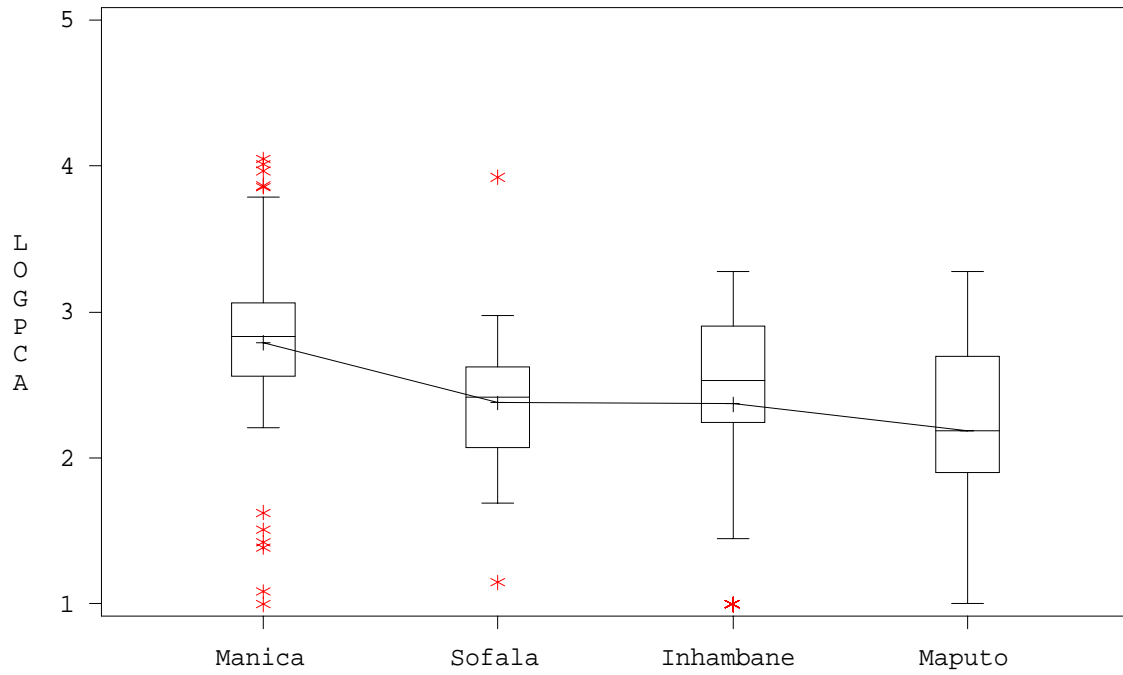
## **VII. GRÁFICAS Y TABLAS DE RESULTADOS ESTADÍSTICOS**



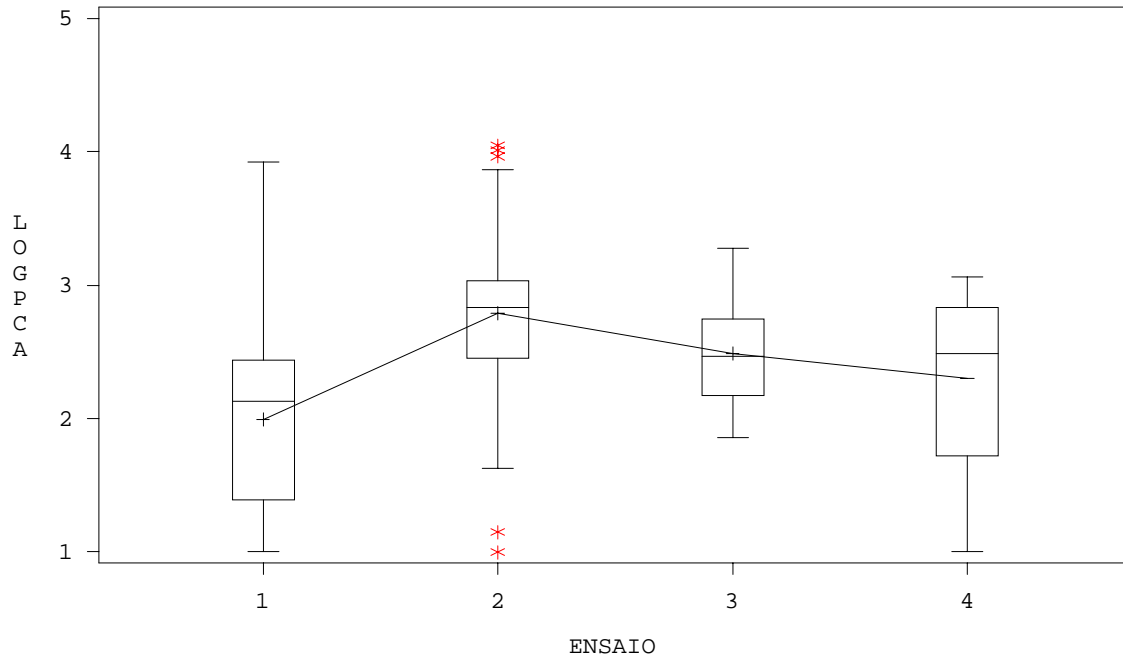




**VII. GRAFICAS Y TABLAS DE RESULTADOS ESTADÍSTICOS**



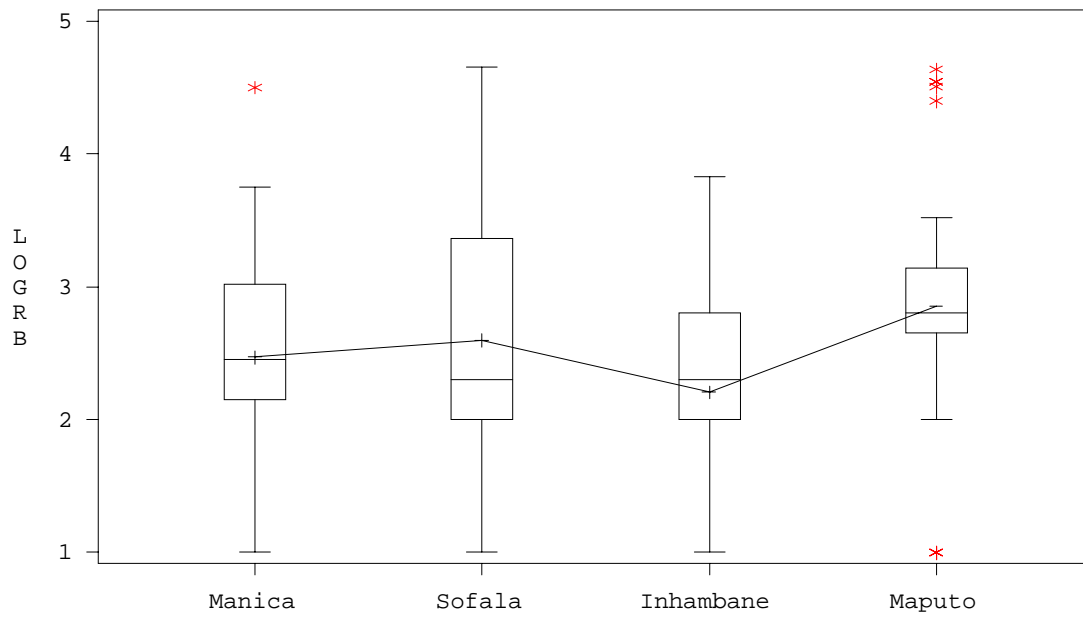
**Figura VII- 1.** Valores de aerobios mesófilos de la miel (log ufc/g) en las diferentes regiones de Mozambique.



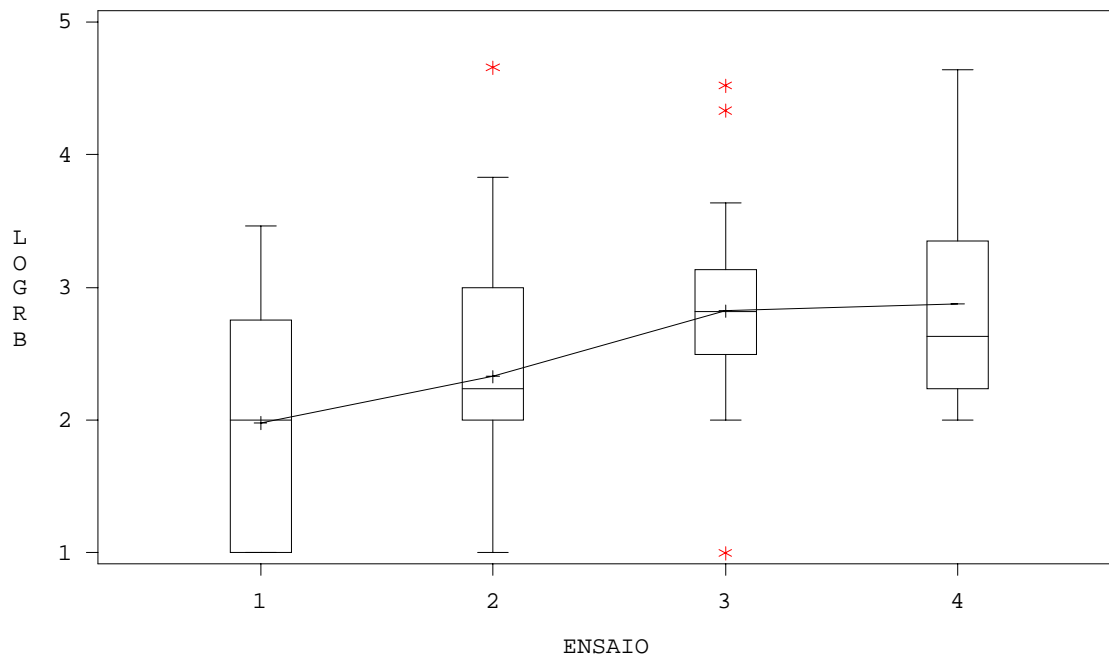
**Figura VII- 2.** Valores de aerobios mesófilos de la miel (log ufc/g) según la época de recogida.

**Tabla VII- 1.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de aerobios mesófilos de la miel de las diferentes regiones.

	Suma de cuadrados		F-Ratio	P-Value
	Entre grupos	Dentro de los grupos		
<b>Análisis de la varianza</b>	9,47	75,33	7,76	<.0001
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			1,93	0,1257
Prueba de Bartlett			8,29	0,0403
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				0,0000
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				
<b>Prueba de comparaciones múltiples:</b>				
<b>Prueba Tukey comparación de 2 al 2</b>				
<b>A - Manica B - Sofala C – Inhambane D – Maputo</b>				
<b>Comparación de 2 al 2</b>		<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Diferencia</b>
A - B		0,1	0,8	0,4
A - C		0,1	0,7	0,4
A - D		0,3	0,9	0,6



**Figura VII- 3.** Valores de Mohos y levaduras de la miel (log ufc/g) en las diferentes regiones de Mozambique.



**Figura VII- 4.** Valores de Mohos y levaduras de la miel (log ufc/g) según la época de recogida.



**Tabla VII- 2.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para mohos y levaduras de la miel de las diferentes regiones.

	Suma de cuadrados		F-Ratio	P-Value
	Entre grupos	Dentro de los grupos		
<b>Análisis de la varianza</b>	10,49	130,30	4,97	0,0024
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			0,68	0,5649
Prueba de Bartlett			1,91	0,5923
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				0,0039
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				
<b>Prueba de comparaciones múltiples:</b>				
<b>Prueba Tukey comparación de 2 al 2</b>				
<b>A - Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo</b>				
<b>Comparación 2 al 2</b>		<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Diferencia</b>
D – C		0,2	1,1	0,6

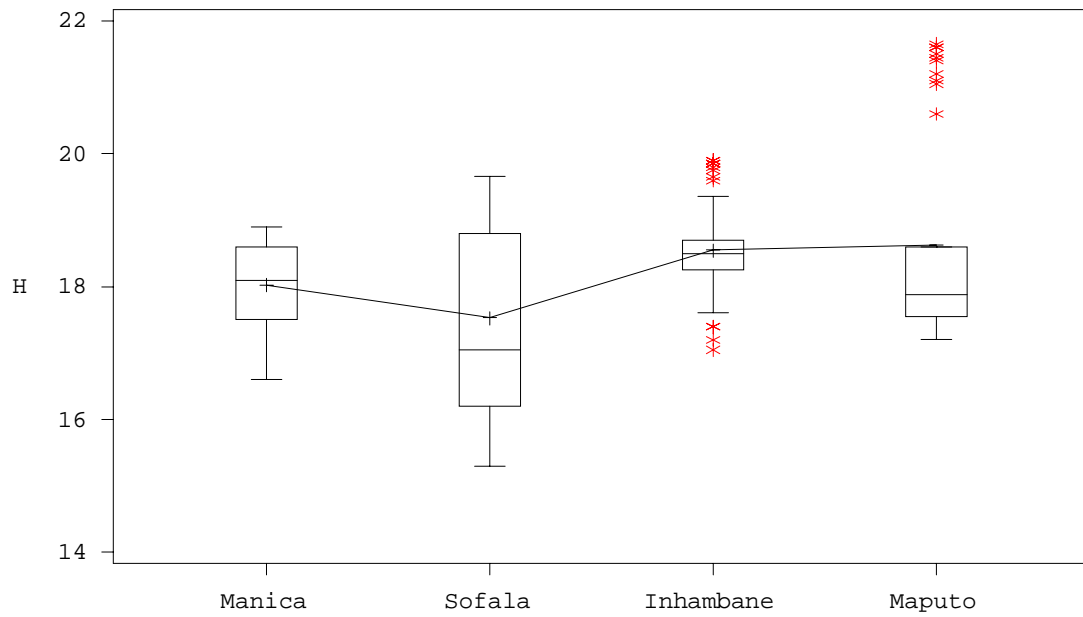


Figura VII- 5. Valores de la humedad de la miel (%) en las diferentes regiones de Mozambique.

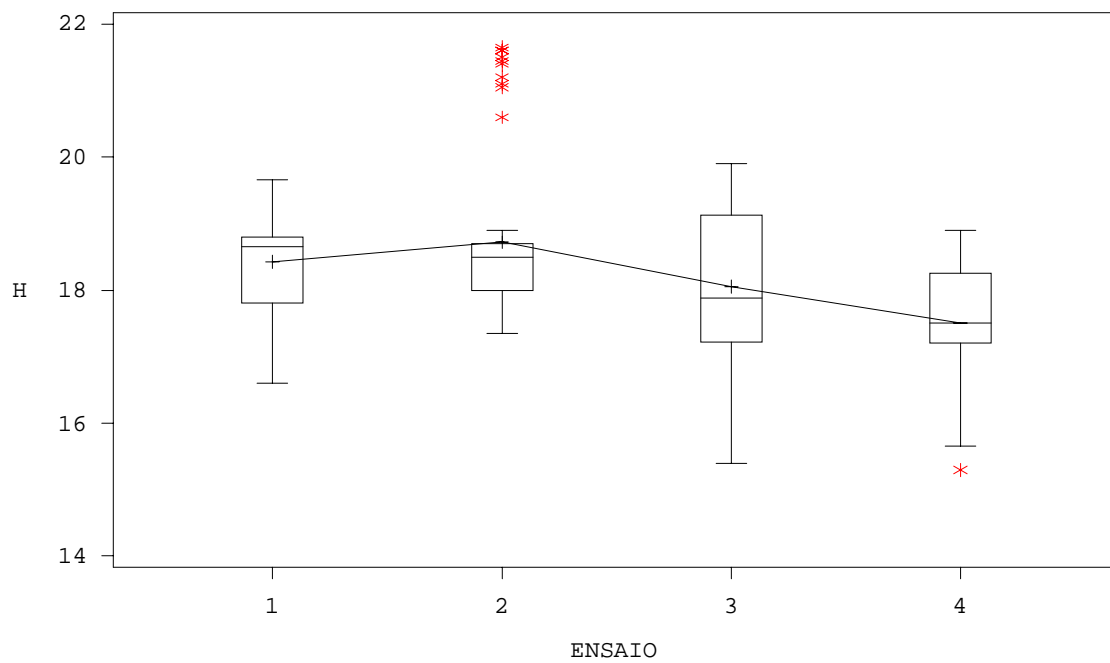


Figura VII- 6. Valores de la humedad de la miel (%) según la epoca de recogida de las muestras.

**Tabla VII- 3.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para humedad de la miel de las diferentes regiones.

	Suma de cuadrados		F-Ratio	P-Value
	Entre grupos	Dentro de los grupos		
<b>Análisis de la varianza</b>	32,58	221,99	9,05	<.0001
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			21,23	<.0001
Prueba de Bartlett			64,92	<.0001
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				0,0029
<b>Prueba de comparaciones múltiples:</b>				
<b>Prueba Tukey comparación de 2 al 2</b>				
<b>A - Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo</b>				
<b>Comparación de 2 al 2</b>		<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Diferencia</b>
D – A		0,0	1,2	0,6
D – B		0,5	1,7	1,1
C – B		0,4	1,6	1,0

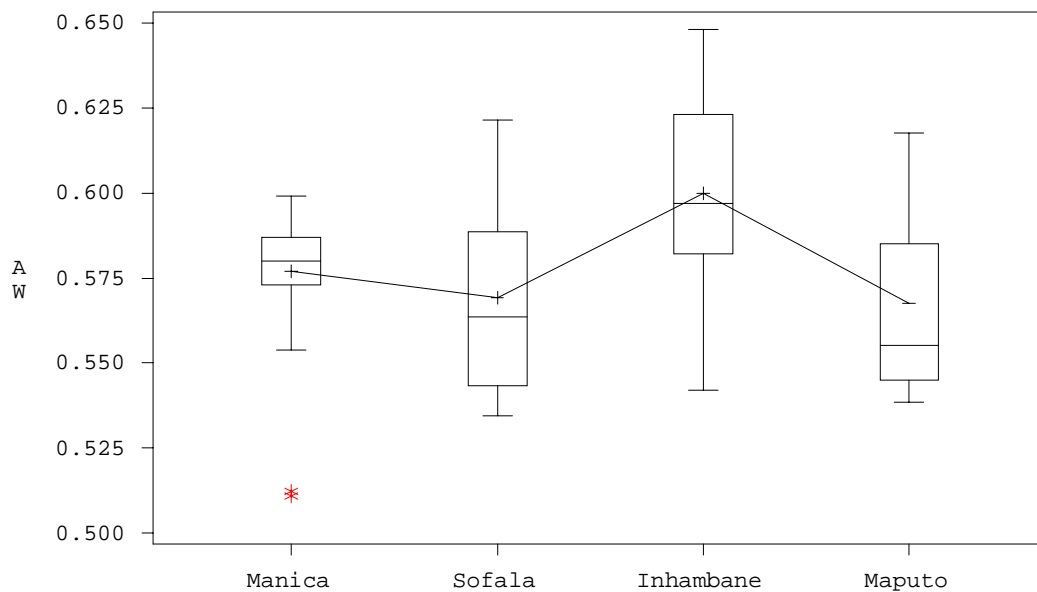


Figura VII- 7. Valores de la actividad de agua de la miel en las diferentes regiones de Mozambique.

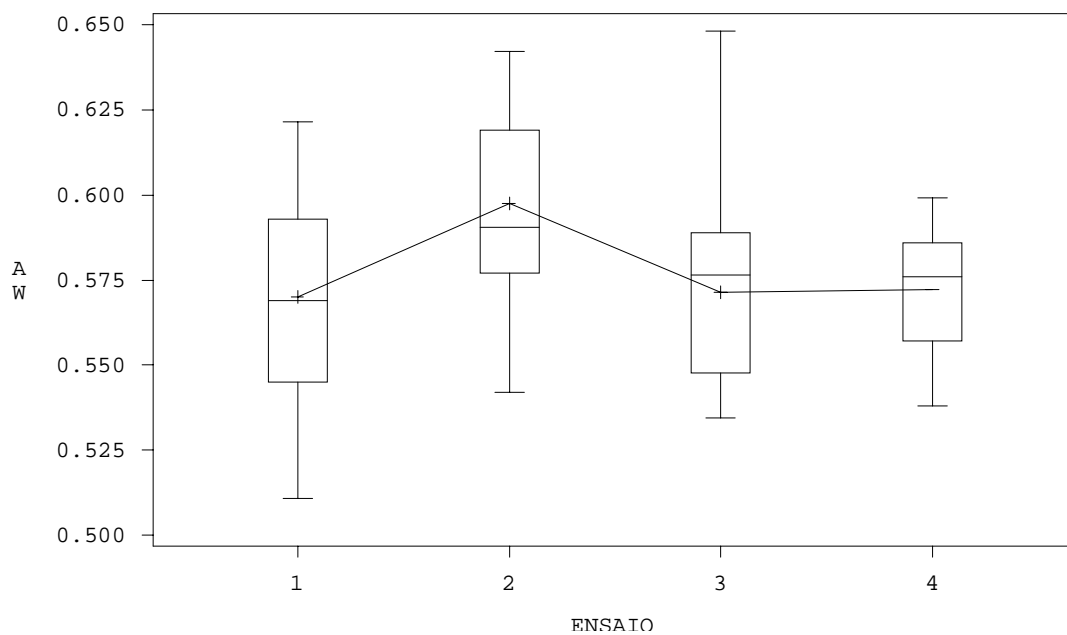


Figura VII- 8. Valores de la actividad de agua de la miel según la época de recogida de muestras.

**Tabla VII- 4.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para actividad de agua ( $a_w$ ) de la miel de las diferentes regiones.

	Suma de cuadrados		F-Ratio	P-Value
	Entre grupos	Dentro de los grupos		
<b>Análisis de la varianza</b>	0,0339	0,0997	21,00	<.0001
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			3,49	0,0169
Prueba de Bartlett			11,16	0,0109
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				0,0000
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				
<b>Prueba de comparaciones múltiples:</b>				
<b>Prueba Tukey comparación de 2 al 2</b>				
<b>A – Manica B - Sofala C – Inhambane D – Maputo</b>				
<b>Comparación de 2 al 2</b>		<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Diferencia</b>
C – A		0,0	0,0	0,0
C – B		0,0	0,0	0,0
C – D		0,0	0,0	0,0

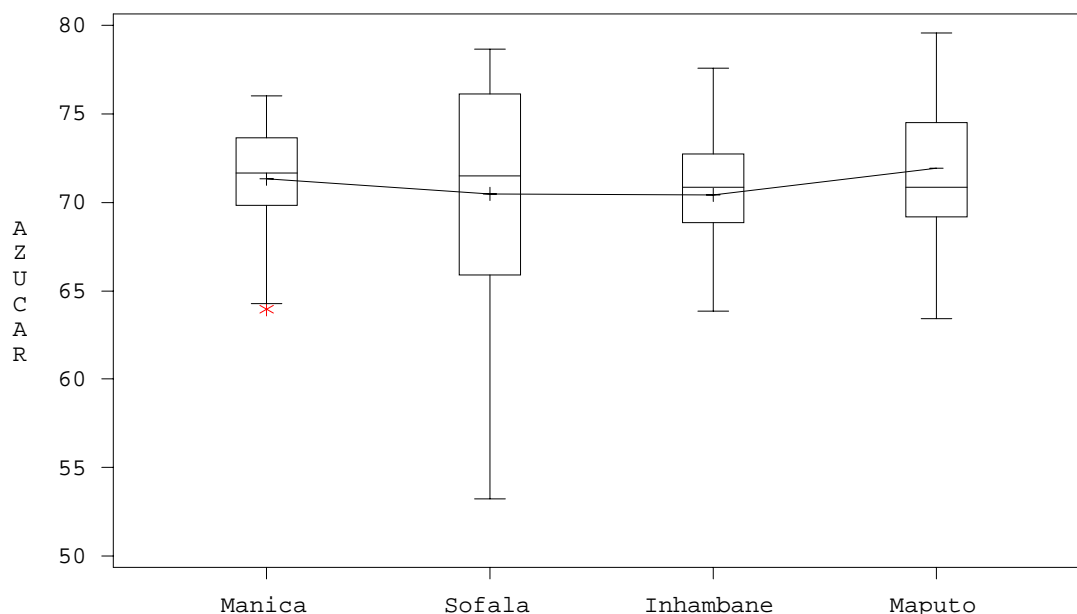


Figura VII- 9. Valores de Azucares de la miel (% , m/m) en las diferentes regiones de Mozambique.

Tabla VII- 5. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de los azúcares totales de la miel de las diferentes regiones.

	Suma de cuadrados		F-Ratio	P-Value
	Entre grupos	Dentro de los grupos		
<b>Análisis de la varianza</b>	72,37	3295,52	1,35	0,2583
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			13,07	<.0001
Prueba de Bartlett			41,08	<.0001
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				0,2739

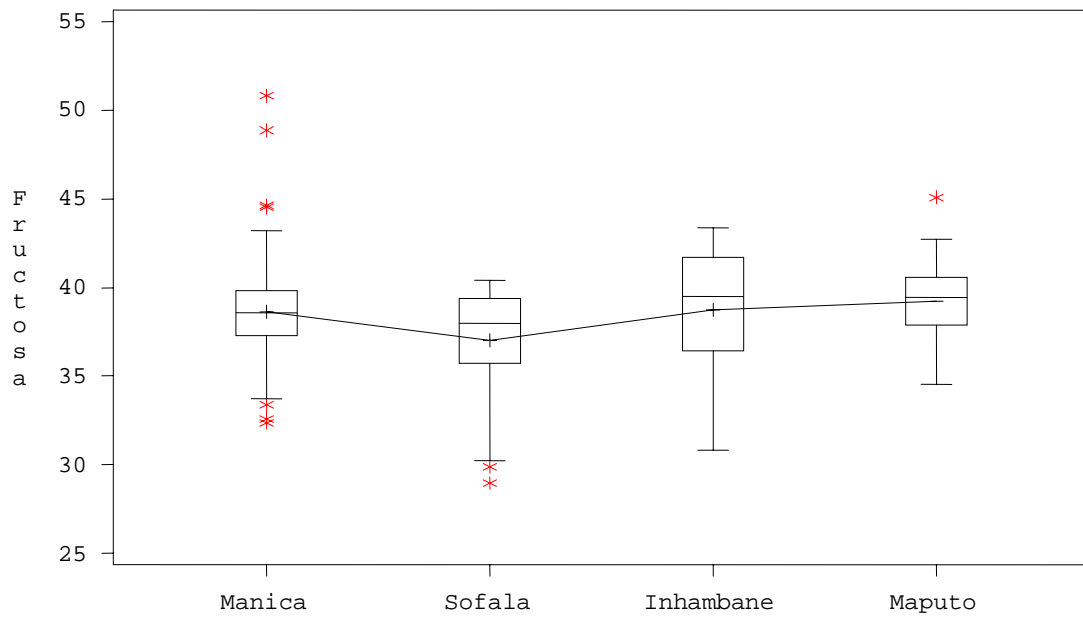


Figura VII- 10. Valores de Fructosa de la miel (% m/m) en las diferentes regiones de Mozambique.

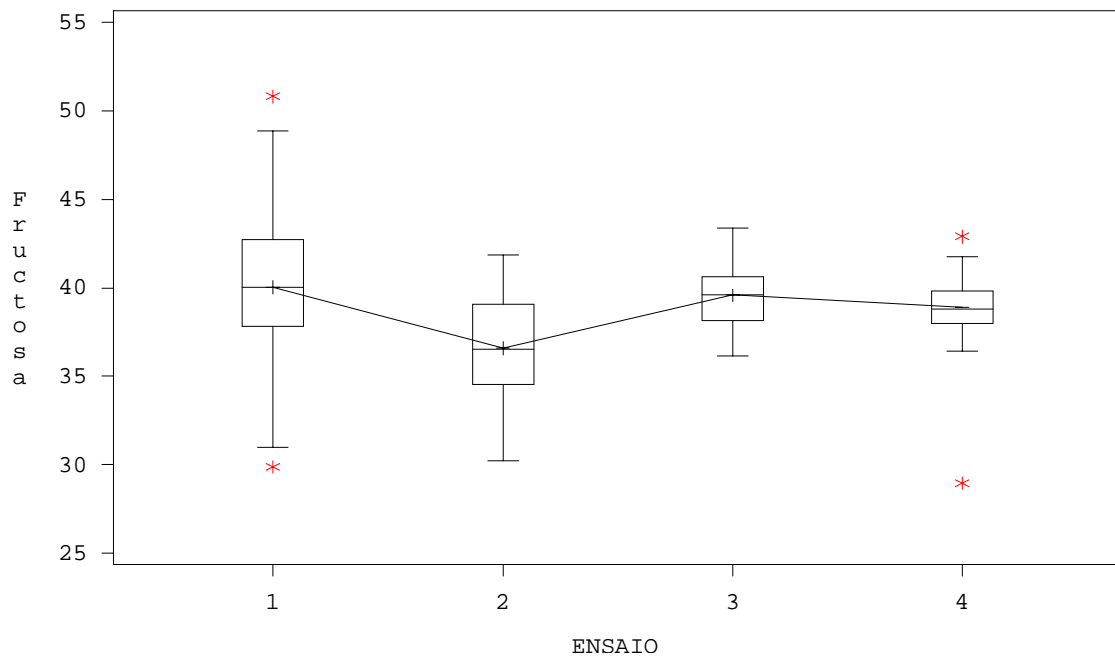


Figura VII- 11. Valores de Fructosa de la miel (% m/m) según la época de recogida de muestras.

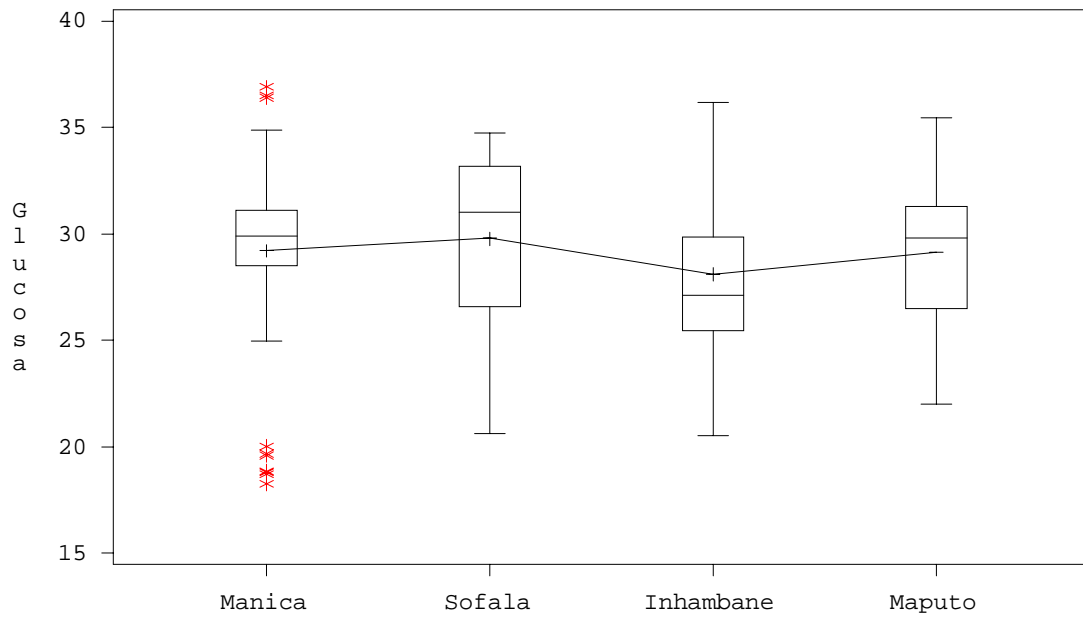


Figura VII- 12. Valores de Glucosa de la miel (% m/m) en las diferentes regiones de Mozambique.

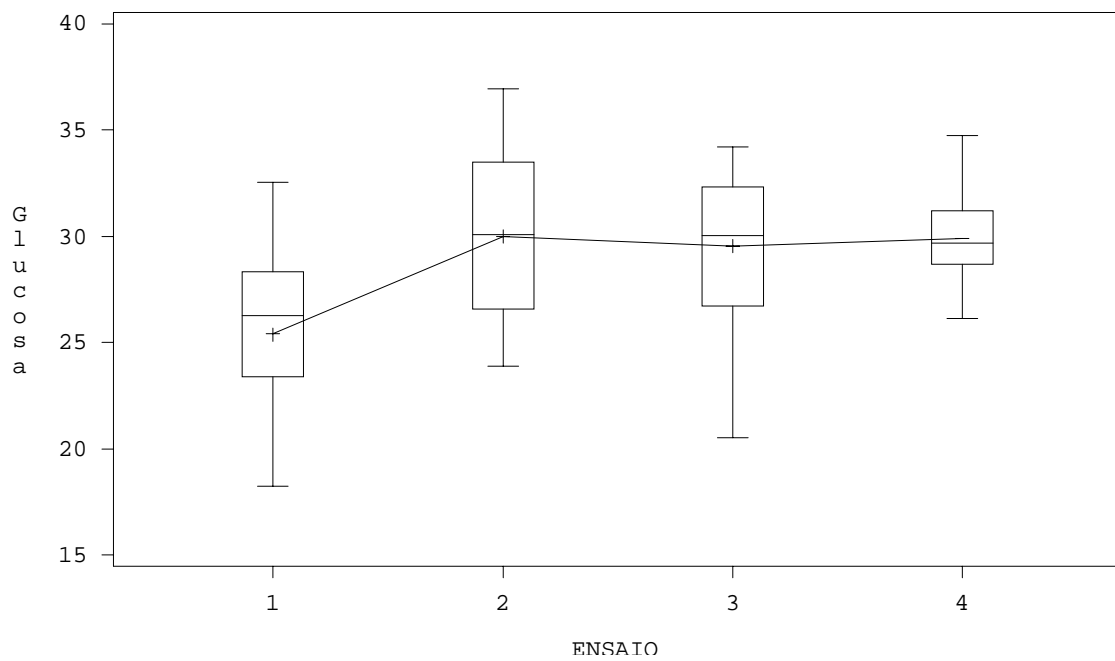


Figura VII- 13. Valores de Glucosa de la miel (% m/m) según la época de recogida de muestras.



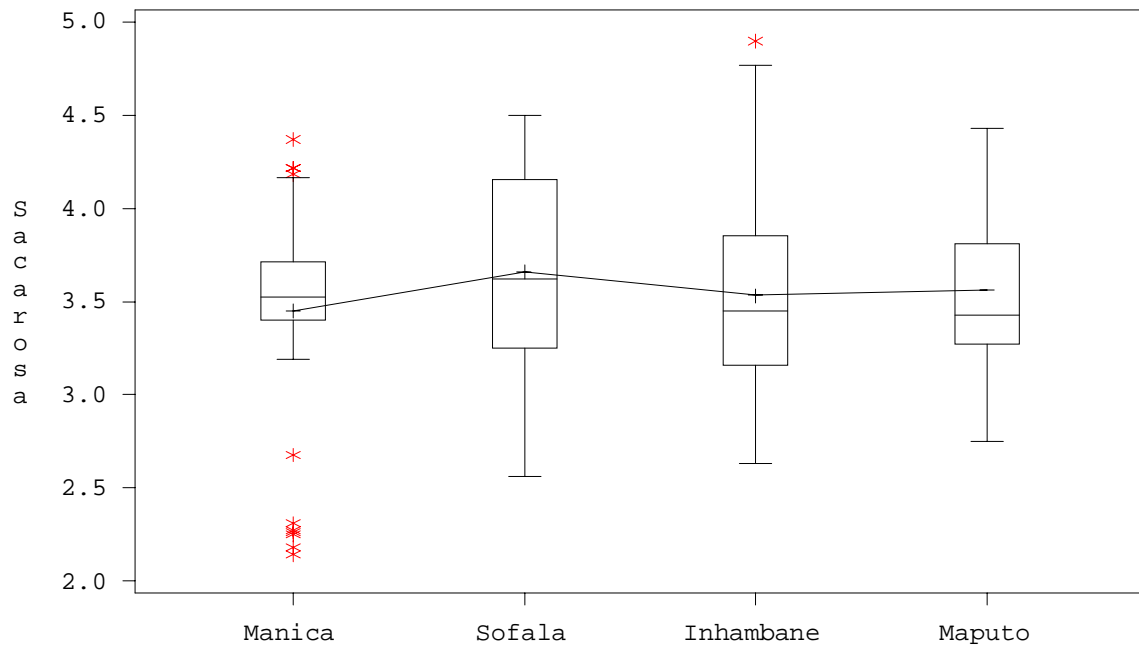


Figura VII- 14. Valores de Sacarosa de la miel (% m/m) en las diferentes regiones de Mozambique

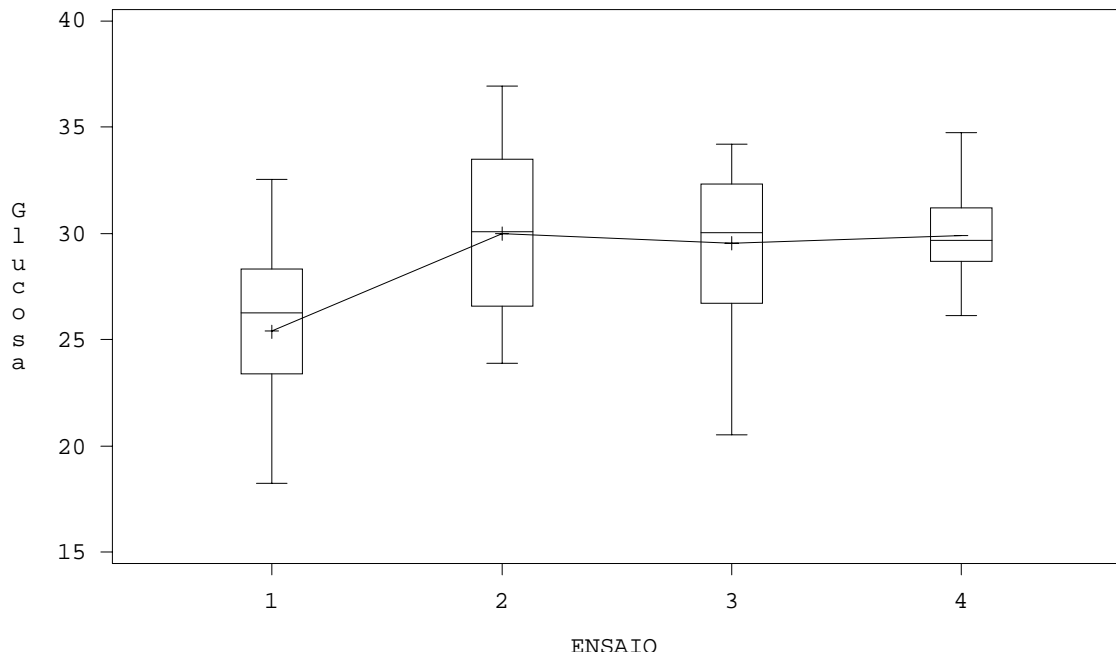


Figura VII- 15. Valores de Sacarosa de la miel (% m/m) en las diferentes regiones de Mozambique.

**Tabla VII- 6.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación del contenido de fructosa, glucosa y sacarosa de la miel, de las diferentes regiones.

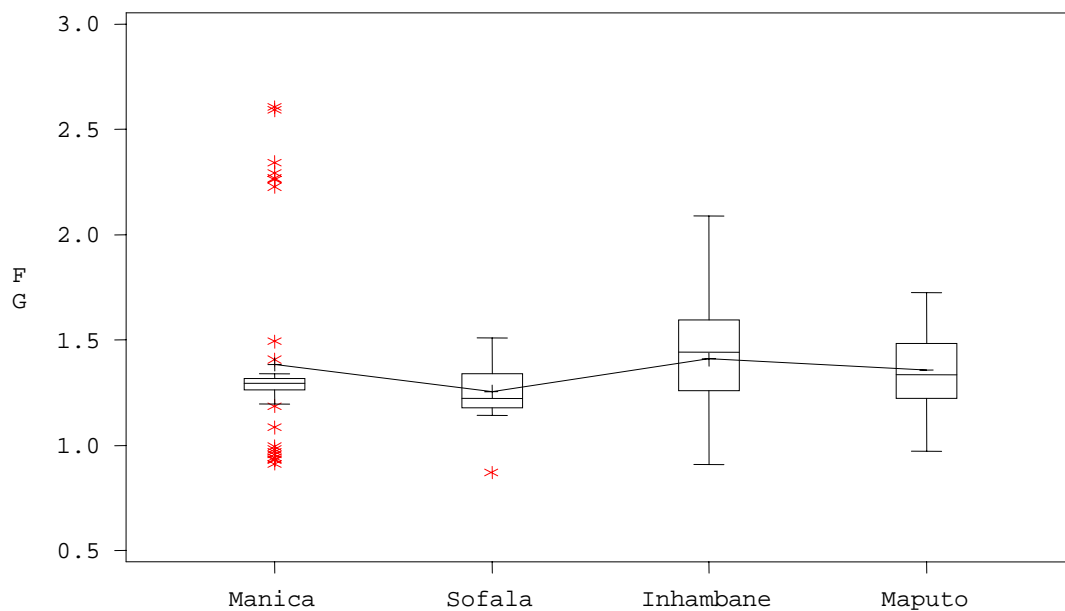
Variables	ANOVA		Pruebas de Varianza		Prueba Kruskal
	F-Ratio	P-Value	Prueba	Prueba	Wallis (medianas) P
			Levene P	Bartlett P	
Fructosa	3,86	0,0103	0,1218	0,0032	0,0088
Glucosa	1,55	0,2039	0,0650	0,0309	0,0322
Sacarosa	1,32	0,2705	0,2554	0,1445	0,4037

**Prueba de comparación múltiples:**

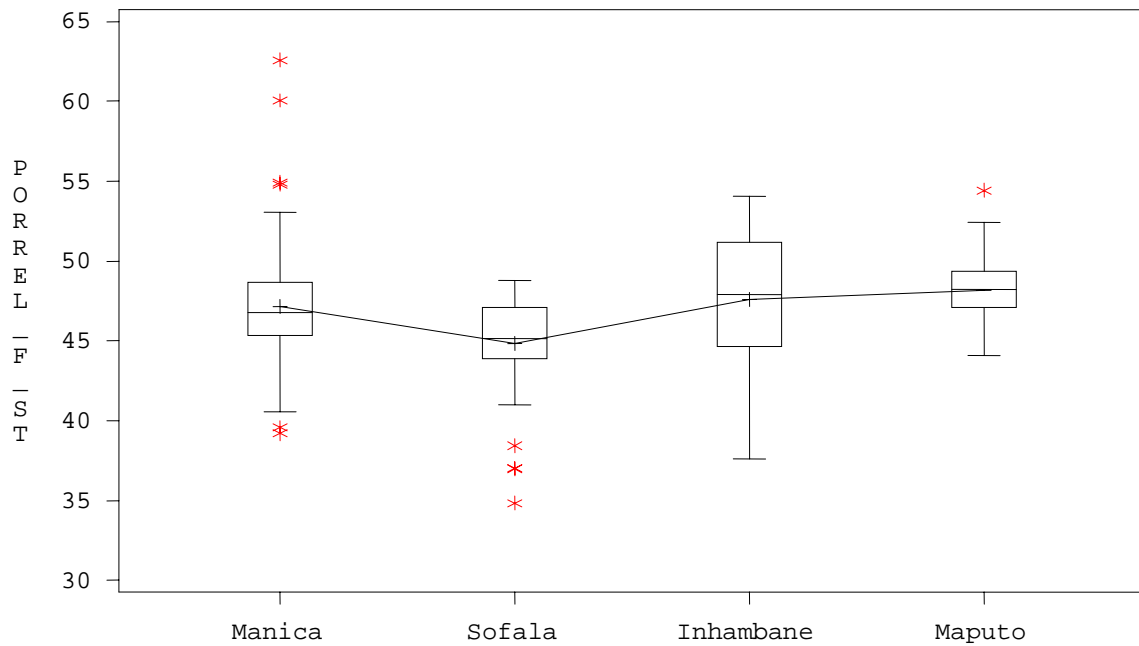
**Prueba Tukey comparación de 2 al 2**

**A - Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo**

Comparación de 2 al 2	Mínimo	Máximo	Diferencia
<b>Fructosa</b>			
D – B	0,4	4,0	2,2
C – B	0,1	3,4	1,7



**Figura VII- 16.** Valores de la relación Fructosa/ Glucosa de la miel en % en las diferentes regiones de Mozambique.



**Figura VII- 17.** Valores de Relación porcentual Fructosa/ Sólidos totales de la miel % en las diferentes regiones de Mozambique.

**Tabla VII- 7.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de la relación fructosa /glucosa y fructosa/sólidos totales de la miel, de las diferentes regiones.

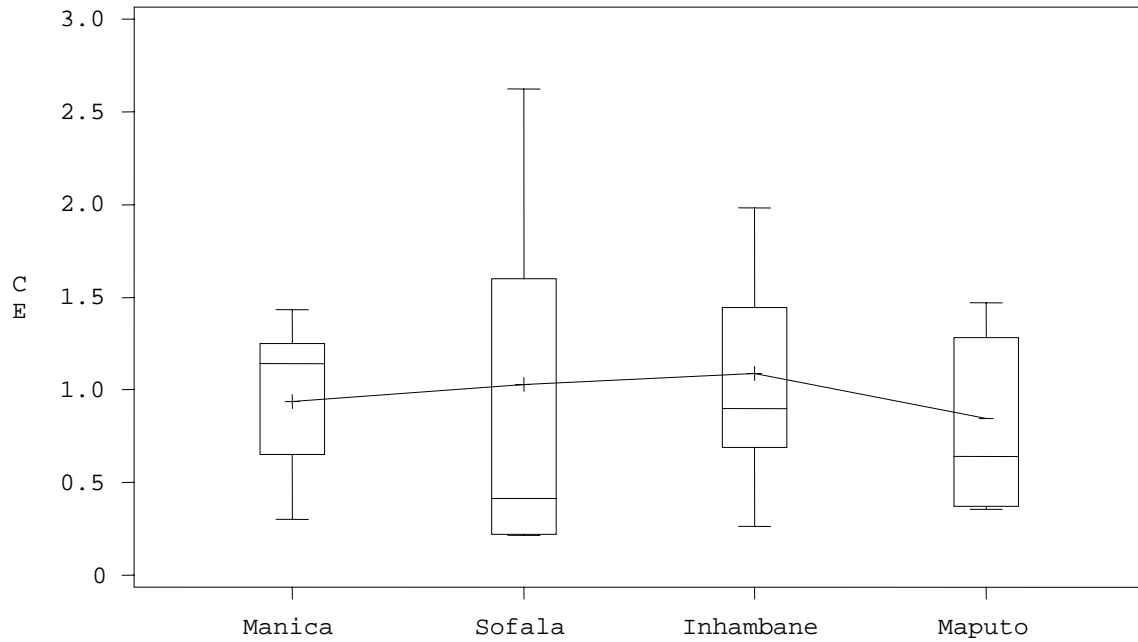
Variables	ANOVA		Pruebas de Varianza		Prueba Kruskal
	F-Ratio	P-Value	Prueba Levene P	Prueba Bartlett P	Wallis (medianas) P
Relación F / G	2,50	0,0612	0,0004	<.0001	0,0027
Relación F / ST	5,86	0,0008	0,0250	<.0001	0,0001

**Prueba de comparaciones múltiples:**

**Prueba Tukey comparación de 2 al 2**

**A - Manica B - Sofala C – Inhambane D – Maputo**

Comparación 2 al 2 F/G	Mínimo	Máximo	Diferencia
C - B	0.0	0.3	0.2



**Figura VII- 18.** Valores de Conductividad eléctrica de la miel (mS/cm) en las diferentes regiones de Mozambique.

**Tabla VII- 8.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de Conductividad eléctrica de la miel de las diferentes regiones.

	Suma de cuadrados		F-Ratio	P-Value
	Entre grupos	Dentro de los grupos		
<b>Análisis de la varianza</b>	1,642	55,071	1,84	0,1415
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			32,54	<.0001
Prueba de Bartlett			43,29	<.0001
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				0,0272

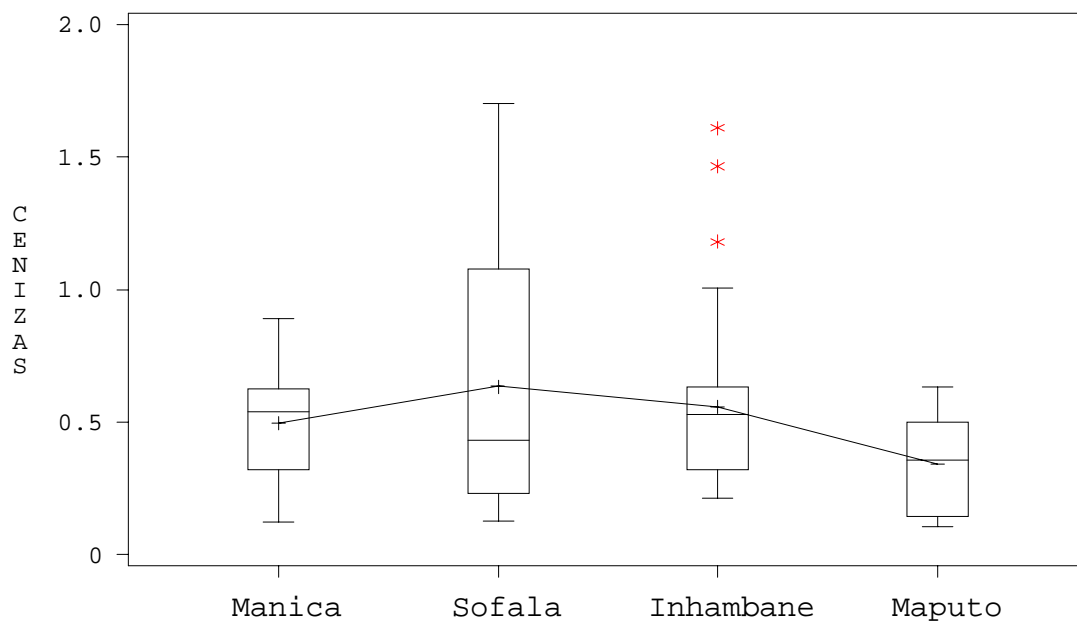


Figura VII- 19. Valores Cenizas de la miel (%) en las diferentes regiones de Mozambique

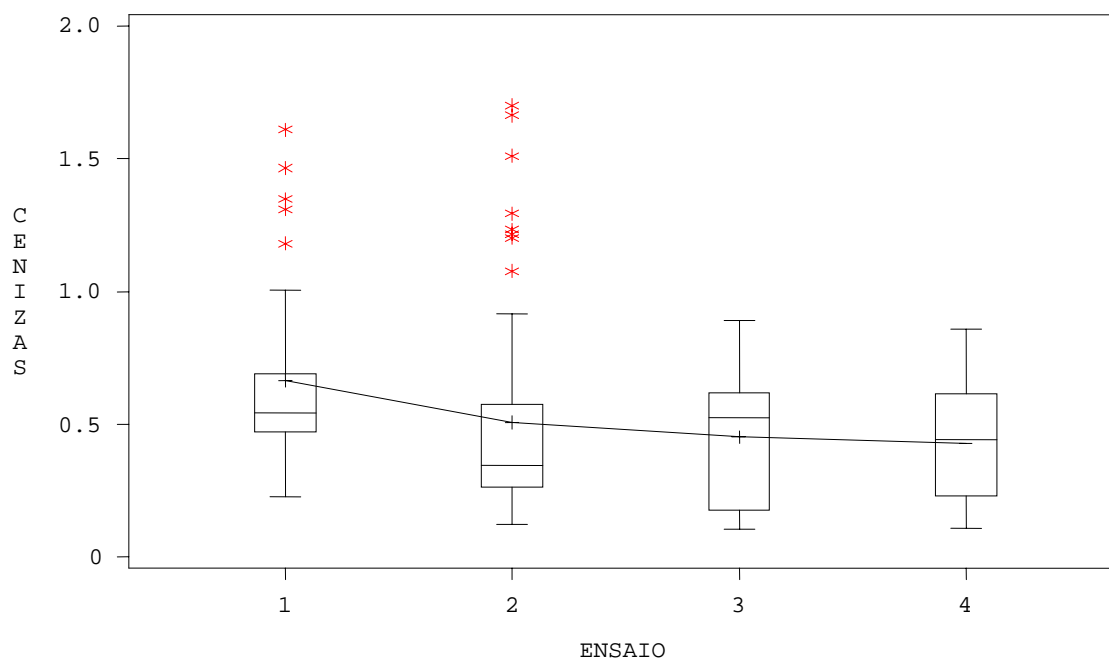
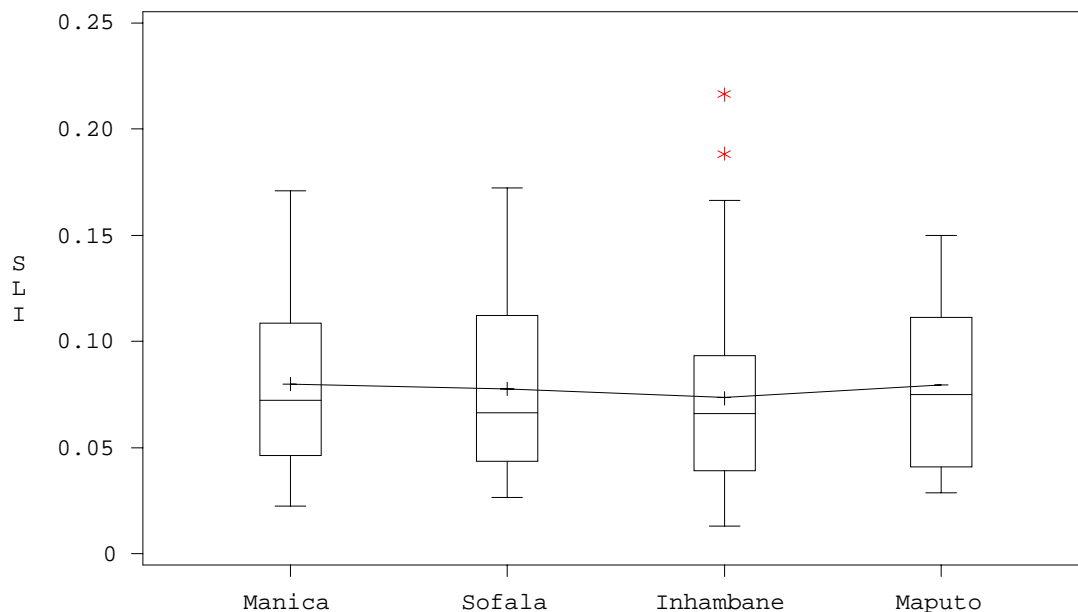


Figura VII- 20. Valores cenizas de la miel (%) según la época de recogida.

**Tabla VII- 9.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de Cenizas de la miel de las diferentes regiones.

	Suma de cuadrados		F-Ratio	P-Value
	Entre grupos	Dentro de los grupos		
<b>Análisis de la varianza</b>	1,9058	16,8777	6,96	0,0002
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			14,31	<.0001
Prueba de Bartlett			54,76	<.0001
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				0,0003
<b>Prueba de comparación múltiples</b>				
<b>Prueba Tukey comparación de 2 a 2</b>				
<b>A - Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo</b>				
Comparación	Mínimo	Máximo	Diferencia	
B - D	0,1	0,5	0,3	
C - D	0,1	0,4	0,2	



**Figura VII- 21.** Valores Sólidos insolubles de la miel (%) en las diferentes regiones de Mozambique

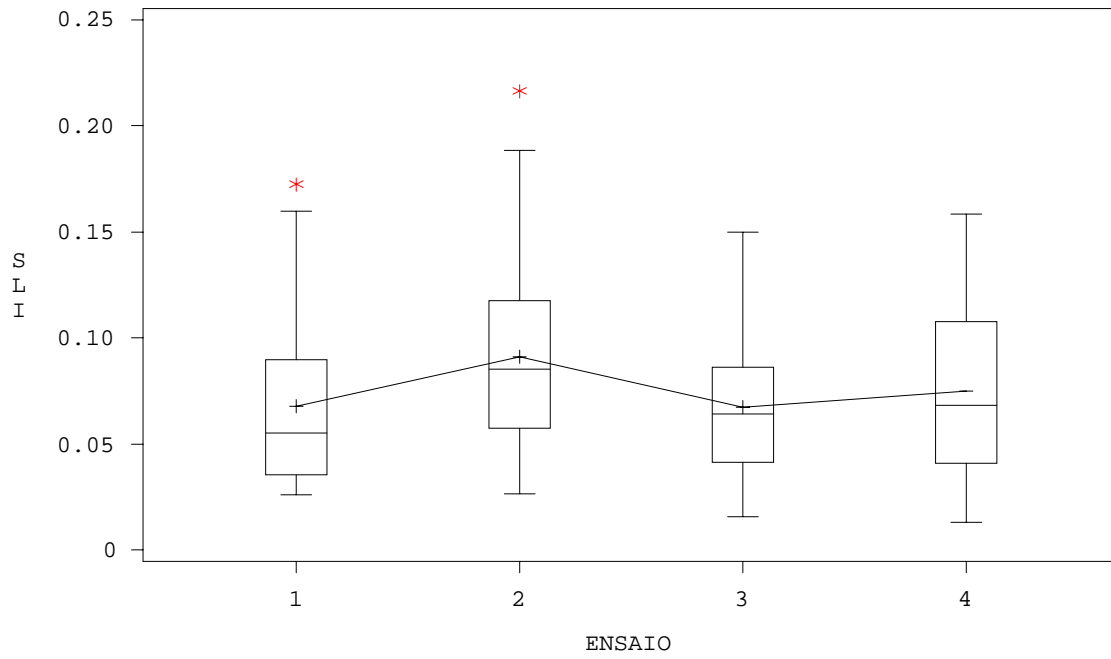


Figura VII- 22. Valores sólidos insolubles de la miel (%) según la época de recogida

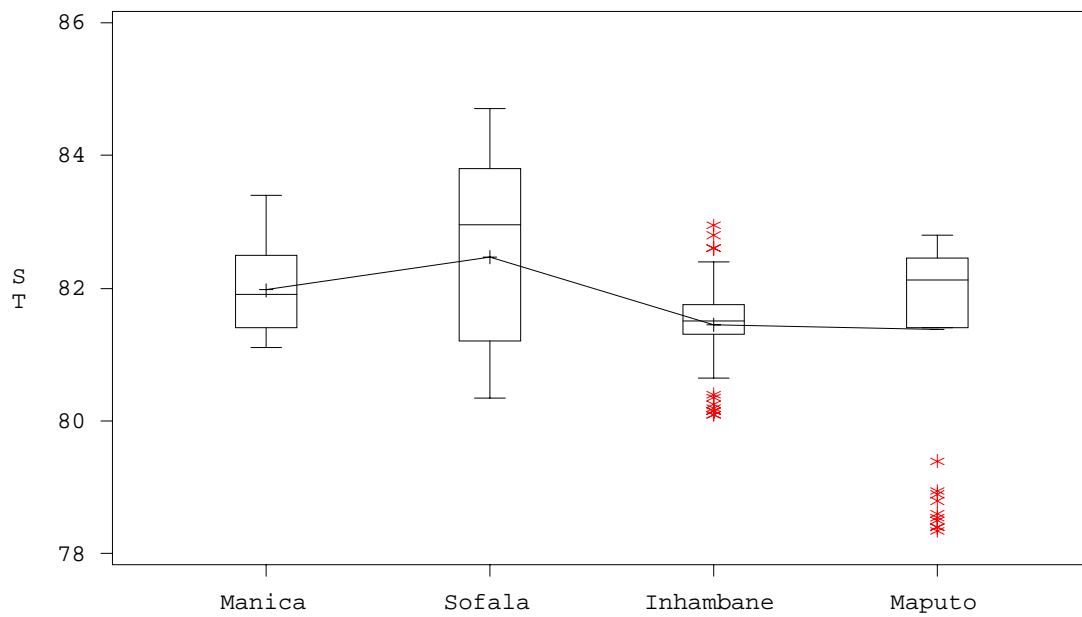


Figura VII- 23. Gráfico de Sólidos totales de la miel (%) en las diferentes regiones de Mozambique

**Tabla VII- 10.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de Sólidos insolubles y Sólidos totales de la miel de las diferentes regiones.

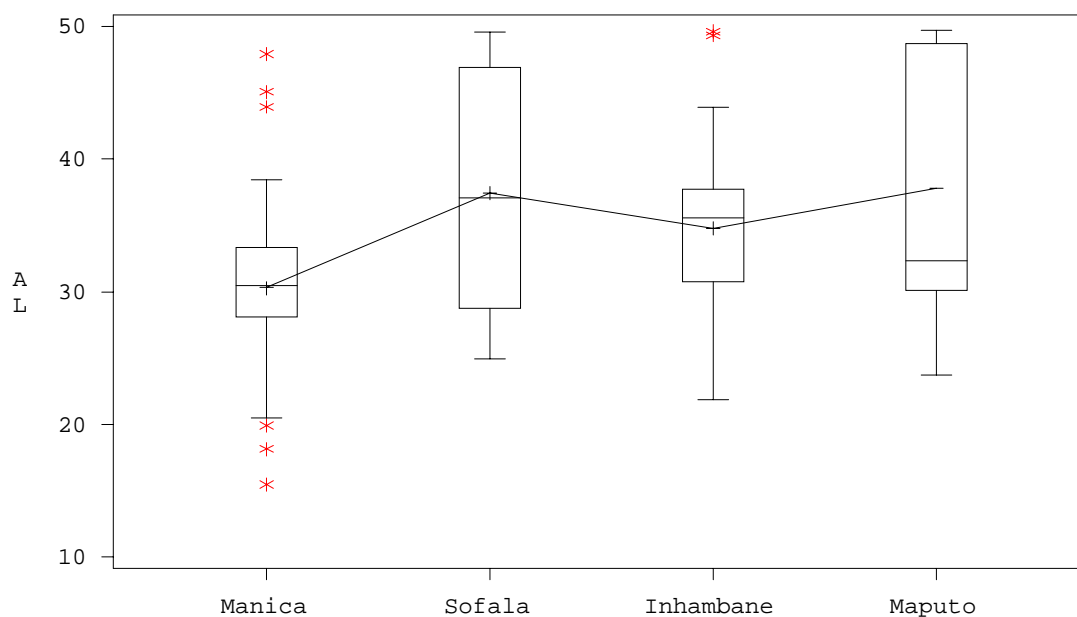
Variables	ANOVA		Pruebas de Varianza		Prueba Kruskal
	F-Ratio	P-Value	Prueba Levene P	Prueba Barlett P	Wallis (medianas) P
<b>S.Insolubles</b>	0,29	0,8324	0,7932	0,7831	0,7168
<b>S.Totales</b>	9,05	<.0001	<.0001	<.0001	0,0028

**Prueba de comparaciones múltiples:**

**Prueba Tukey comparación de 2 a 2**

**A - Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo**

Comparación 2 al 2 S.totales	Mínimo	Máximo	Diferencia
B - C	0,4	1,6	1,0
B - D	0,5	1,7	1,1
A - D	0,0	1,2	0,6



**Figura VII- 24.** Valores de acidez libre de la miel (meq/kg) en las diferentes regiones de Mozambique



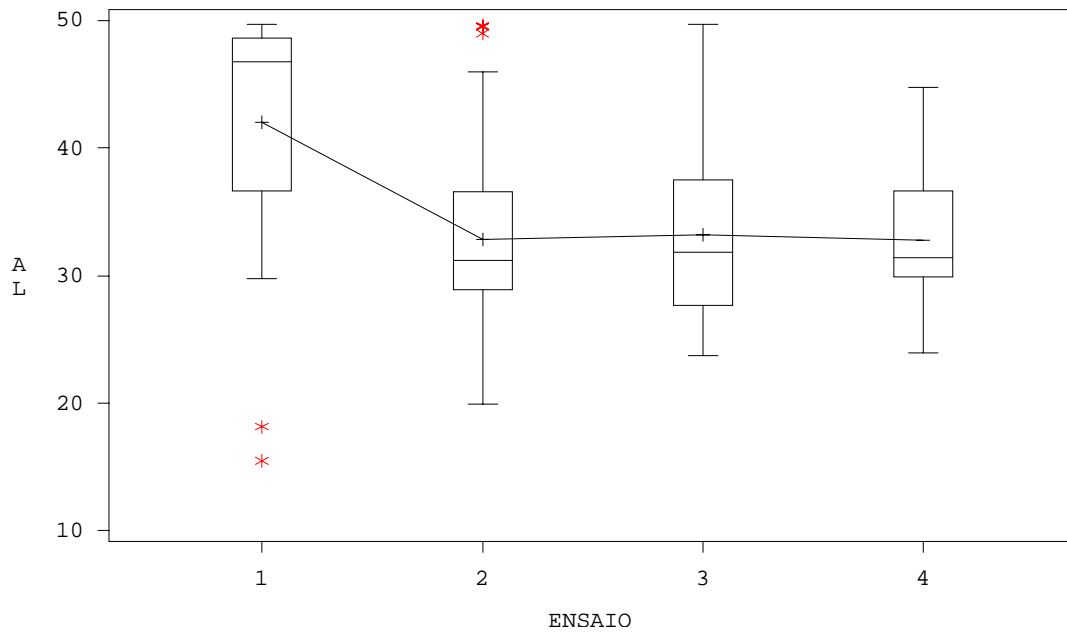


Figura VII- 25. Valores de la acidez libre de la miel (meq/kg) según la época de recogida.

Tabla VII- 11. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de la acidez libre de la miel de las diferentes regiones

	Suma de cuadrados		F-Ratio	P-Value
	Entre grupos	Dentro de los grupos		
<b>Análisis de la varianza</b>	1704,12	10663,30	9,86	<.0001
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			14,85	<.0001
Prueba de Bartlett			21,09	0,0001
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				0,0002
<b>Prueba de comparaciones múltiples:</b>				
<b>Prueba Tukey comparación de 2 a 2</b>				
<b>A - Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo</b>				
<b>Comparación</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Diferencia</b>	
D - A	3,4	11,6	7,5	
B - A	2,9	11,3	7,1	
C - A	0,7	8,3	4,5	

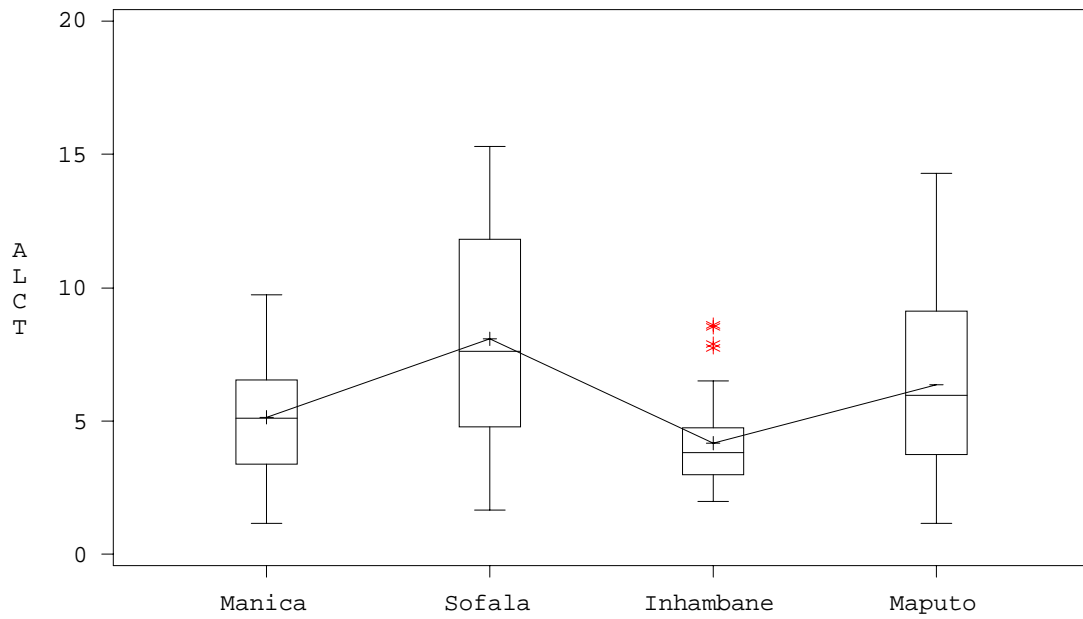


Figura VII- 26. Valores de acidez lactónica de la miel (meq/kg) según las diferentes regiones

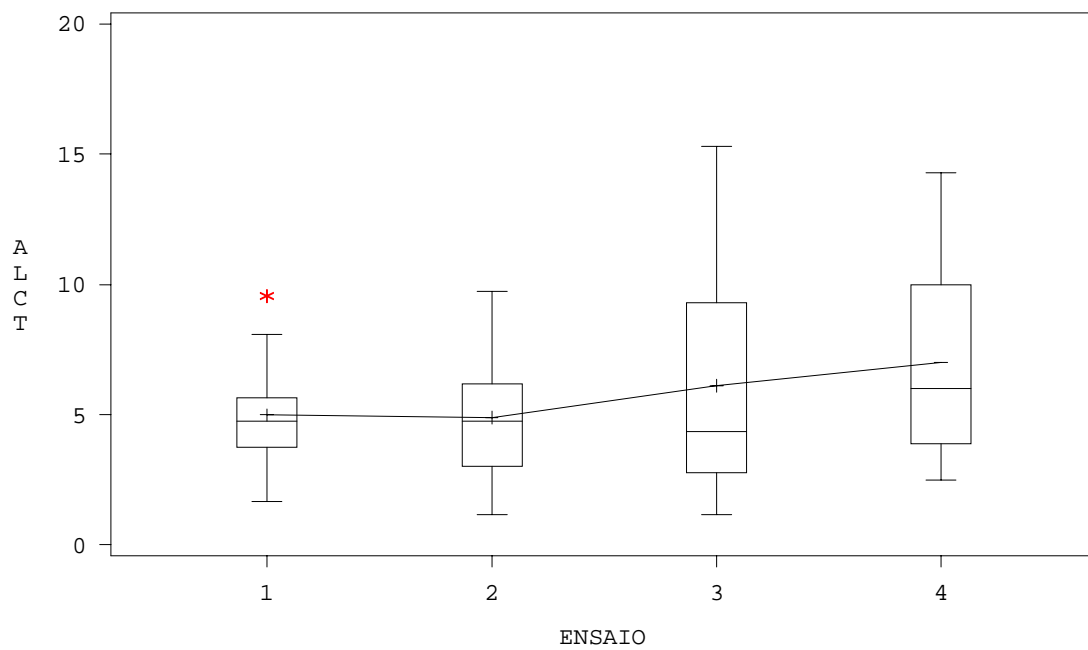


Figura VII- 27. Valores de la acidez lactónica de la miel (meq/kg) según la época de recogida.

**Tabla VII- 12.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de la acidez lactónica de la miel de las diferentes regiones

	<b>Suma de cuadrados</b>		<b>F-Ratio</b>	<b>P-Value</b>
	<b>Entre grupos</b>	<b>Dentro de los grupos</b>		
<b>Análisis de la varianza</b>	375,19	1573,53	14,70	<.0001
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			17,40	<.0001
Prueba de Bartlett			47,92	<.0001
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				0,0000
<b>Prueba de comparaciones múltiples:</b>				
<b>Prueba Tukey comparación de 2 a 2</b>				
<b>A – Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo</b>				
<b>Comparación 2 al 2</b>		<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Diferencia</b>
B - D		0,0	3,4	1,7
B - A		1,3	4,6	2,9
B - C		2,3	5,5	3,9
D - B		-3,4	-0,0	-1,7
D - C		0,6	3,7	2,2

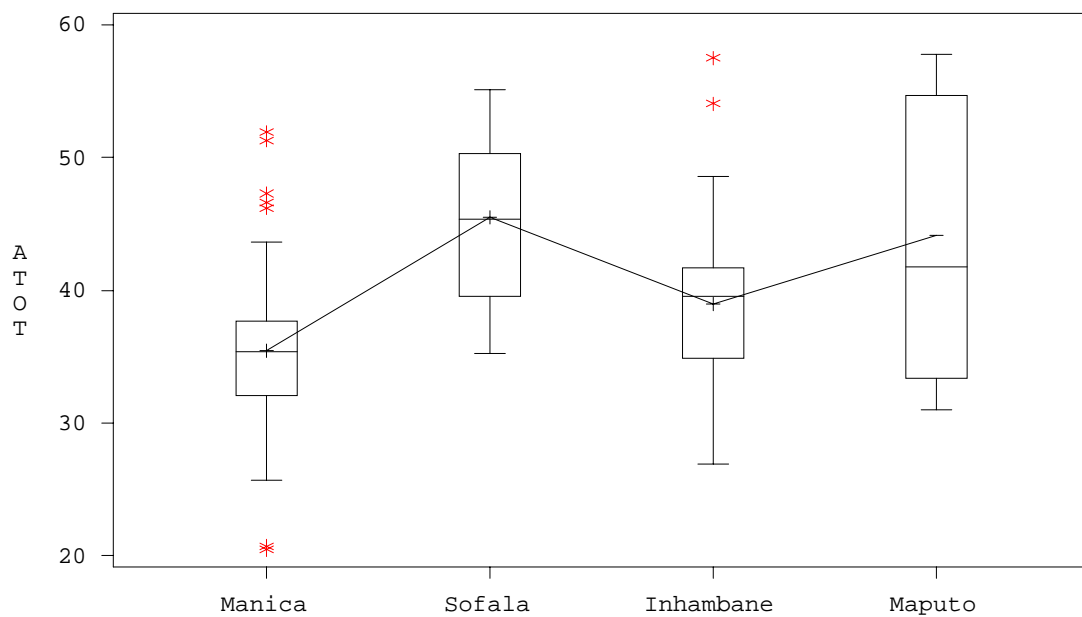


Figura VII- 28. Valores de la acidez total de la miel (meq/kg) en las diferentes regiones

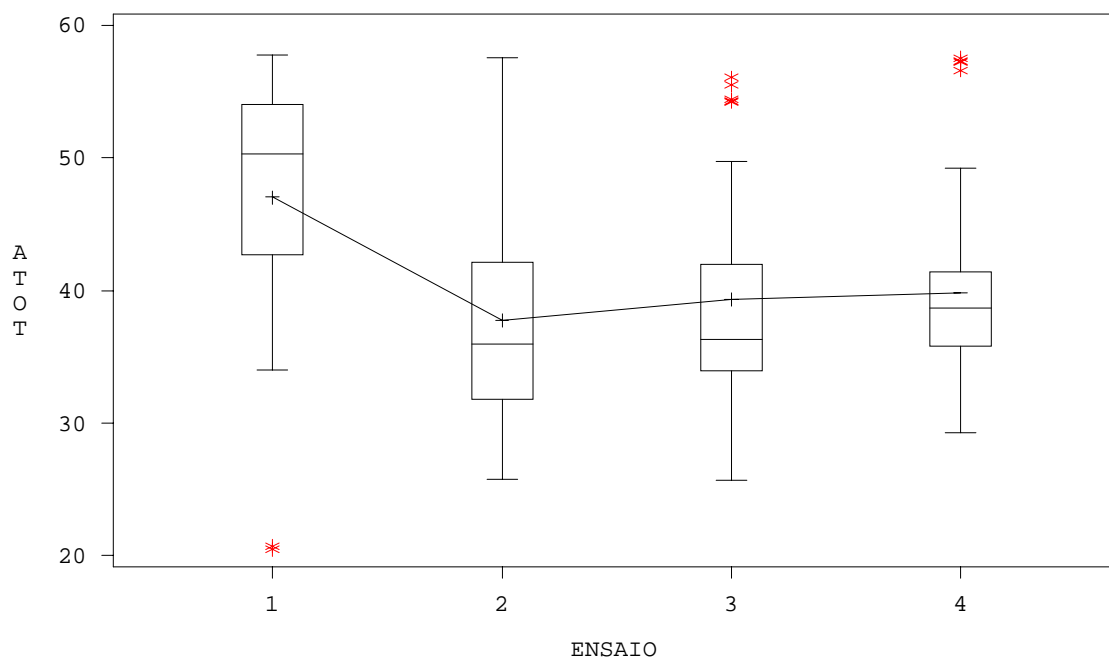


Figura VII- 29. Valores de la acidez total de la miel (meq/kg) según la época de recogida.

**Tabla VII- 13.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de la acidez total de la miel de las diferentes regiones

	<b>Suma de cuadrados</b>		<b>F-Ratio</b>	<b>P-Value</b>
	<b>Entre grupos</b>	<b>Dentro de los grupos</b>		
<b>Análisis de la varianza</b>	2969,12	10136,52	18,06	<.0001
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			19,61	<.0001
Prueba de Bartlett			23,38	<.0001
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				0,0000
<b>Prueba de comparación múltiples</b>				
<b>Prueba Tukey comparación de 2 a 2</b>				
<b>A - Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo</b>				
<b>Comparación 2 al 2</b>		<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Diferencia</b>
B - C		2,5	10,6	6,5
B - A		5,9	14,2	10,1
D - C		1,3	9,1	5,2
D - A		4,7	12,7	8,7

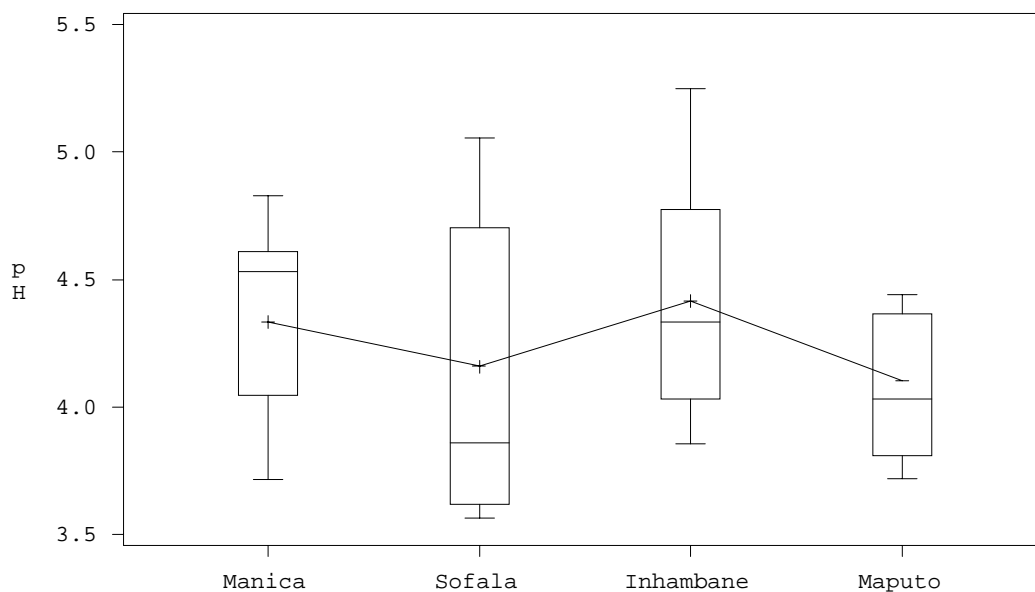
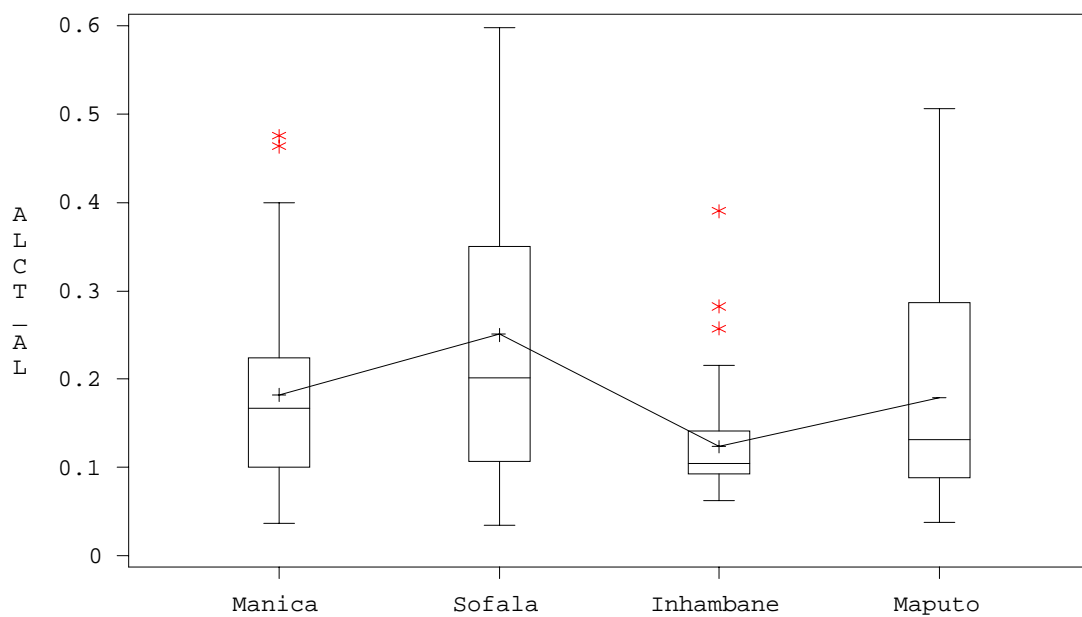


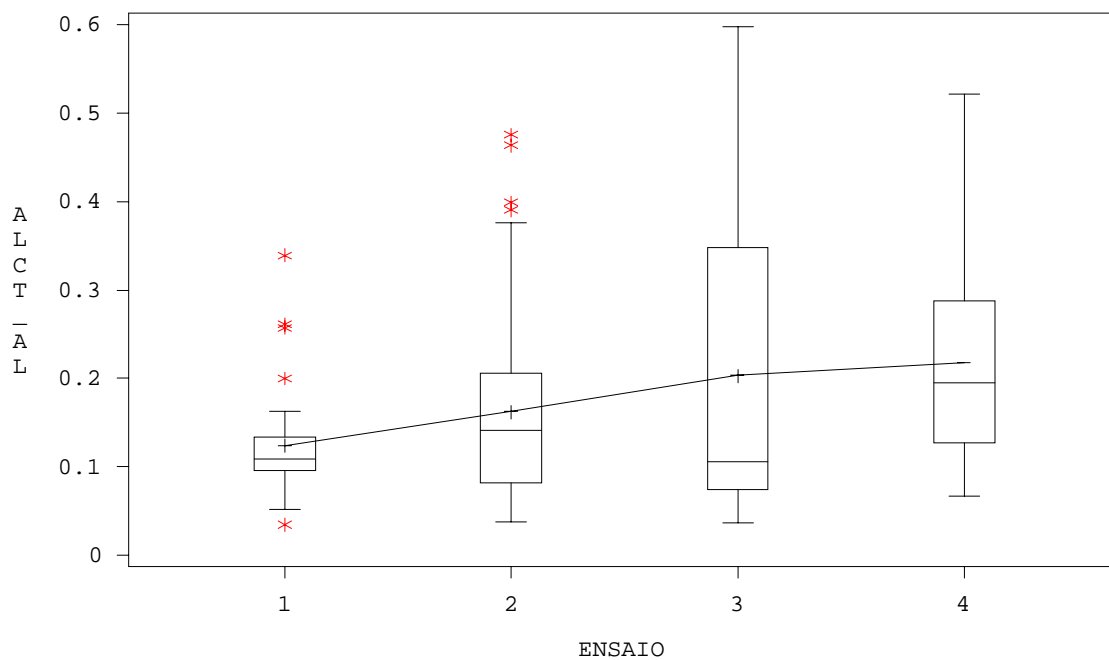
Figura VII- 30. Valores de pH de la miel (meq/kg) en las diferentes regiones de Mozambique

Tabla VII- 14. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de pH de la miel de las diferentes regiones

	Suma de cuadrados		F-Ratio	P-Value
	Entre grupos	Dentro de los grupos		
<b>Análisis de la varianza</b>	3,03	26,76	6,98	0,0002
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			20,21	<.0001
Prueba de Bartlett			21,30	<.0001
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				0,0001
<b>Prueba de comparación múltiples</b>				
<b>Prueba Tukey comparación de 2 a 2</b>				
<b>A - Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo</b>				
<b>Comparación 2 al 2</b>		<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Diferencia</b>
C - B		0,0	0,5	0,3
C - D		0,1	0,5	0,3
A - D		0,0	0,4	0,2



**Figura VII- 31.** Valores de relación acidez lactonica / acidez libre (meq/kg) en las diferentes regiones de Mozambique.



**Figura VII- 32.** Valores de la relación ALCT\_AL de la miel (meq/kg) según la época de recogida

**Tabla VII- 15.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de la relación Acidez lactónica / Acidez libre de la miel de las diferentes regiones.

	<b>Suma de cuadrados</b>		<b>F-Ratio</b>	<b>P-Value</b>
	<b>Entre grupos</b>	<b>Dentro de los grupos</b>		
<b>Análisis de la varianza</b>	0,3632	2,3920	9,36	<.0001
<b>Pruebas de varianza:</b>				
Prueba Levene			13,55	<.0001
Prueba de Bartlett			49,98	<.0001
<b>Pruebas de comparación de medianas :</b>				
Prueba Kruskal Wallis (medianas) p				0,0016
<b>Prueba de comparación múltiples</b>				
<b>Prueba Tukey comparación de 2 a 2</b>				
<b>A - Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo</b>				
<b>Comparación 2 al 2</b>		<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Diferencia</b>
B – A		0,0	0,1	0,1
B - D		0,0	0,1	0,1
B - C		0,1	0,2	0,1
A - C		0,0	0,1	0,1



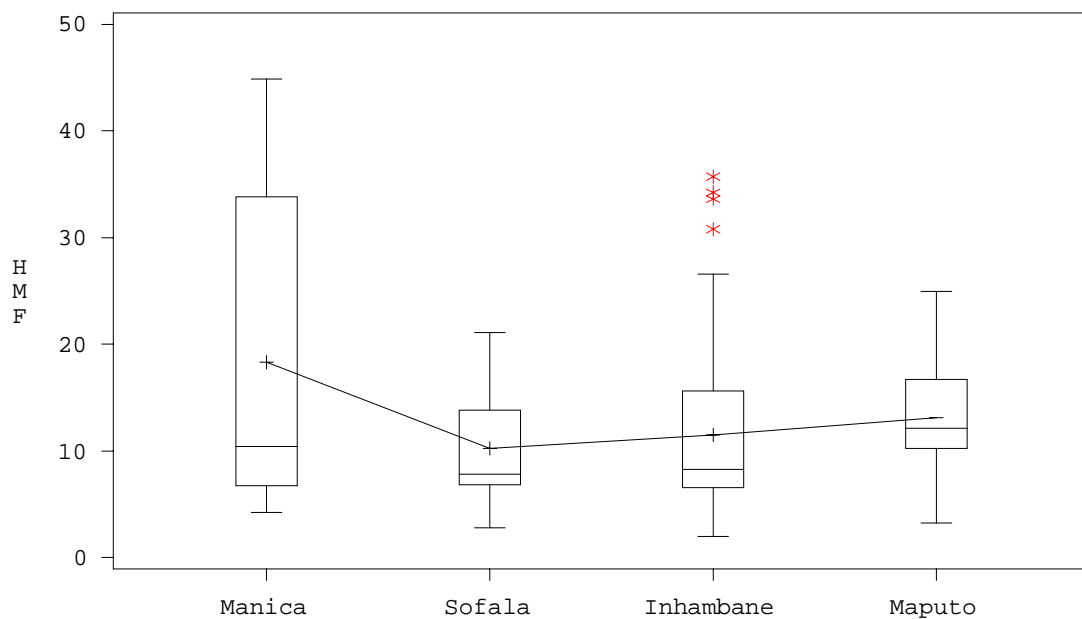


Figura VII- 33. Valores hidroximetilfurfural de la miel (mg/kg) en las diferentes regiones.

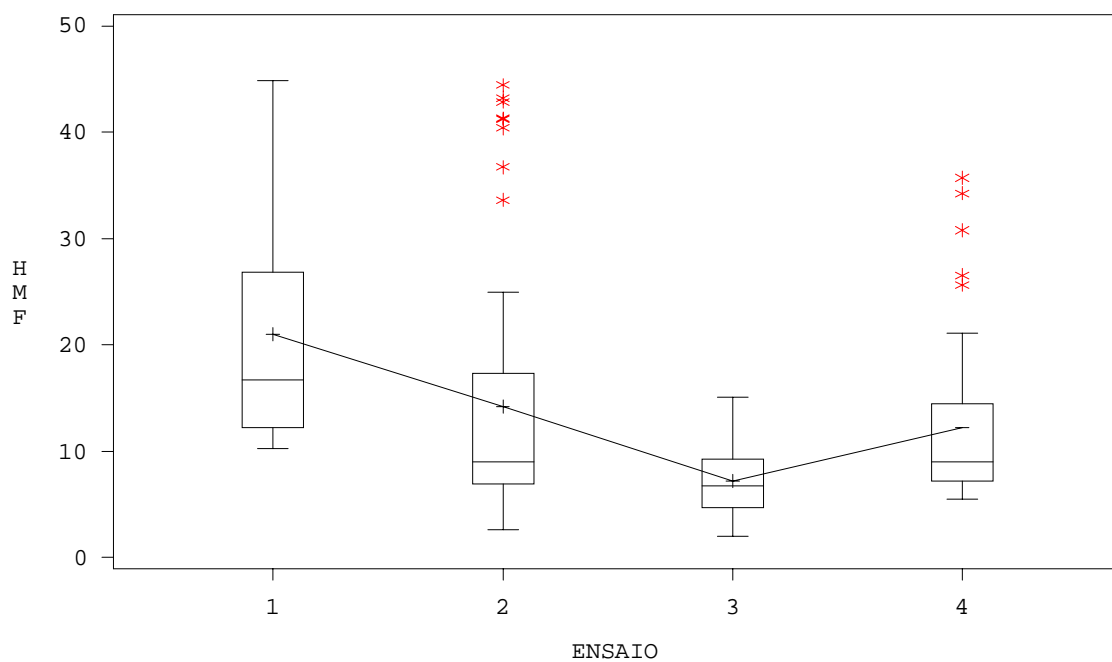
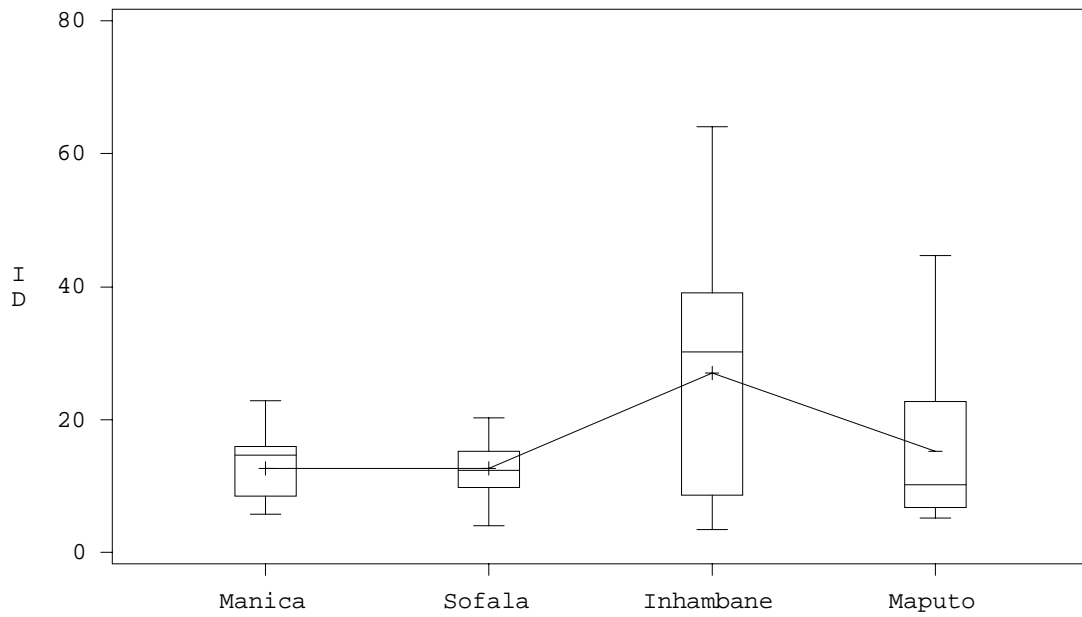
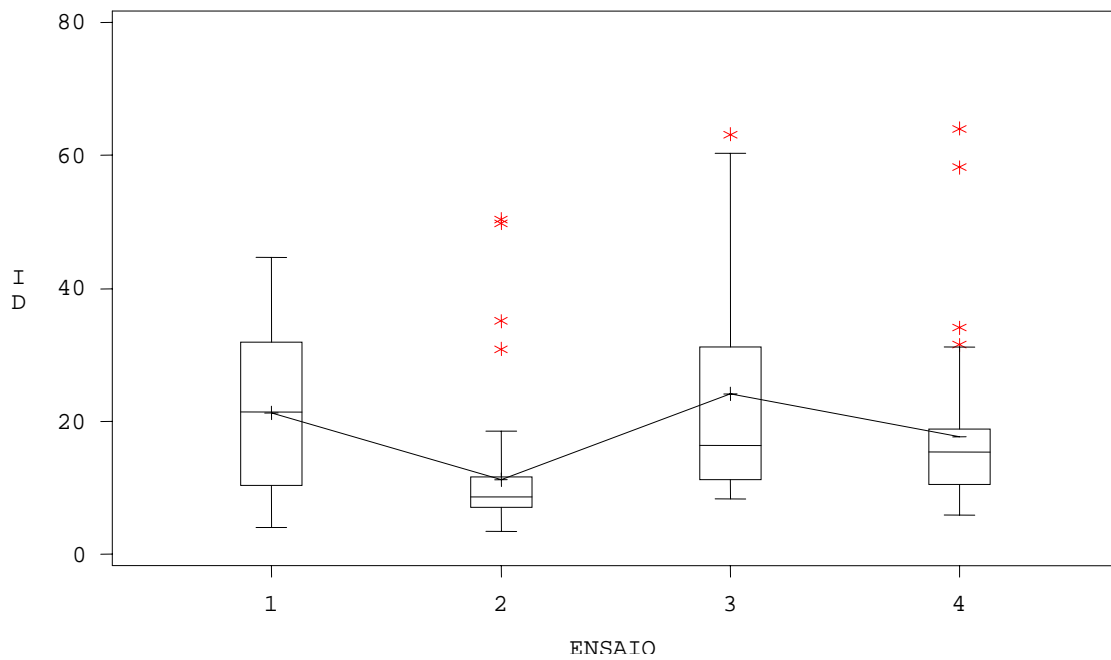


Figura VII- 34. Valores de HMF de la miel (meq/kg) según la época de recogida



**Figura VII- 35.** Valores de Índice de diastasa de la miel en (°Gothe) en las diferentes regiones de Mozambique



**Figura VII- 36.** Valores Índice de diastasa de la miel en (°Gothe) según época de recogida.

**Tabla VII- 16.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación del contenido de HMF (mg/kg) e Índice de diastasa (° G), de la miel de las diferentes regiones.

Variables	ANOVA		Pruebas de Varianza		Prueba Kruskal Wallis (medianas) P
	F-Ratio	P-Value	Prueba Levene P	Prueba Bartlett P	
HMF	6,59	0,0003	<.0001	<.0001	0,0125
Índice diastasa	18,41	<.0001	<.0001	<.0001	0,0087

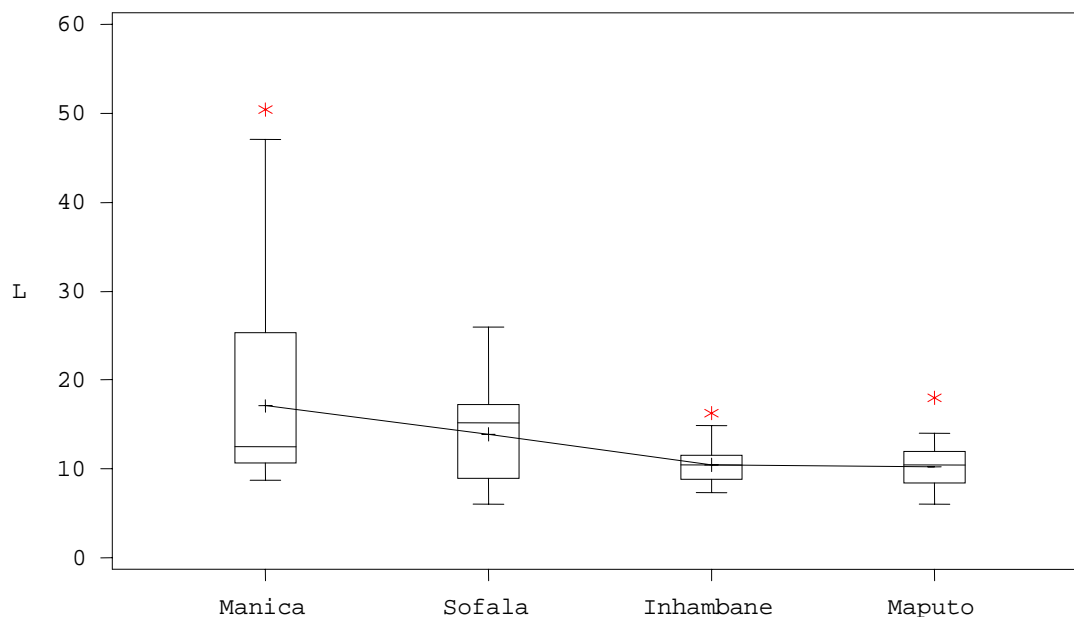
**Prueba de comparación múltiples**

**Prueba Tukey comparación de 2 al 2**

A – Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo

Comparación 2 al 2	Mínimo	Máximo	Diferencia
A – D*	0,0	10,4	5,2
A – C*	2,0	11,6	6,8
A – B*	2,7	13,5	8,1
C – D**	5,7	18,0	11,8
C – A**	8,6	20,1	14,4
C – B**	8,0	20,8	14,4

HMF \* ID\*\*



**Figura VII- 37.** Valores Luminosidad de la miel en las diferentes regiones

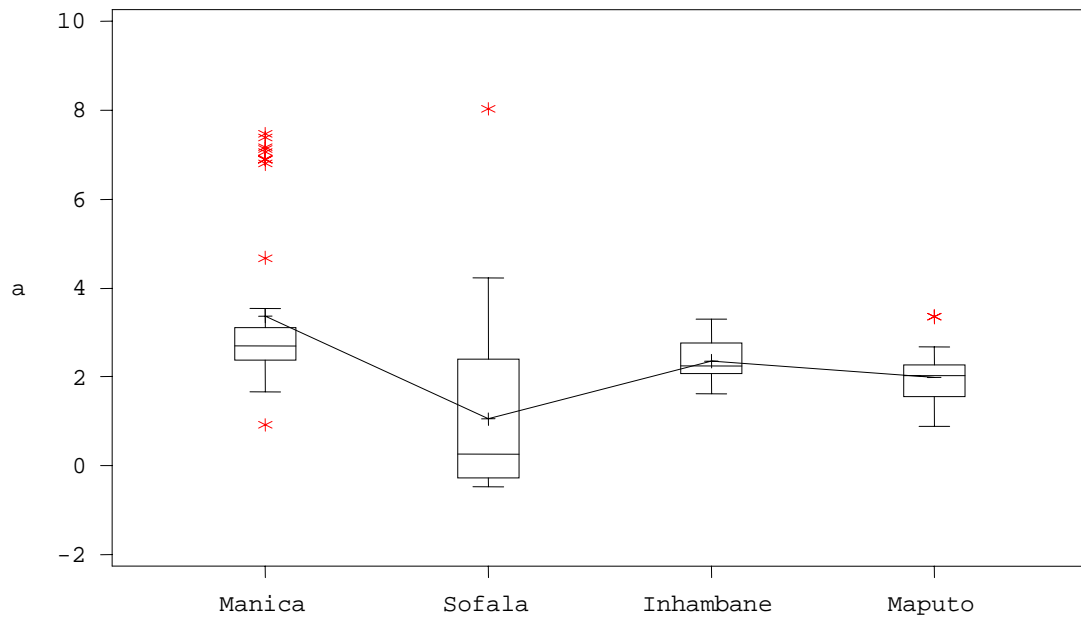


Figura VII- 38. Valores de  $a^*$  de la miel en las según épocas de recogida

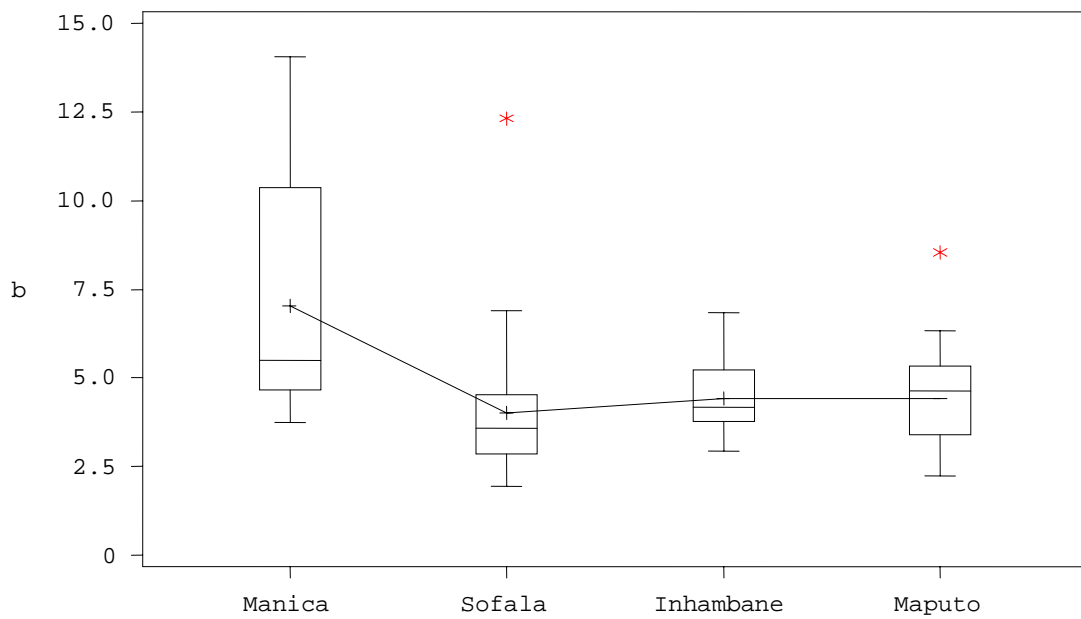


Figura VII- 39. Valores de  $b^*$  en las diferentes regiones de Mozambique

**Tabla VII- 17.** Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de los valores de la luminosidad y los parámetros a\* y b\* de la miel, para el Iluminante D65, 10°, de la miel de las diferentes regiones

Variables	ANOVA		Pruebas Varianza		Prueba Kruskal Wallis (medianas) P
	F-Ratio	P-Value	Prueba Levene P	Prueba Barlett P	
Luminosidad	17,10	<.0001	<.0001	<.0001	0,0000
a*	24,67	<.0001	0,0002	<.0001	0,0000
b*	22,92	<.0001	<.0001	<.0001	0,0000

**Prueba de comparación múltiples**

**Prueba Tukey comparación de 2 al 2**

**A - Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo**

Comparación 2 al 2	Mínimo	Máximo	Diferencia
A – B**	0,1	6,3	3,2
A – C**	3,9	9,4	6,6
A – D**	3,9	9,9	6,9
B – C**	0,4	6,5	3,5
B – D**	0,4	7,0	3,7
A – C***	0,4	1,6	1,0
A – D***	0,7	2,1	1,4
A – B***	1,6	3,0	2,3
C – B***	0,6	2,0	1,3
D – B***	0,2	1,7	0,9
A – C****	1,6	3,6	2,6
A – D****	1,5	3,7	2,6
A – B****	1,9	4,1	3,0

L\*\*, a\*\*\*, b\*\*\*\*

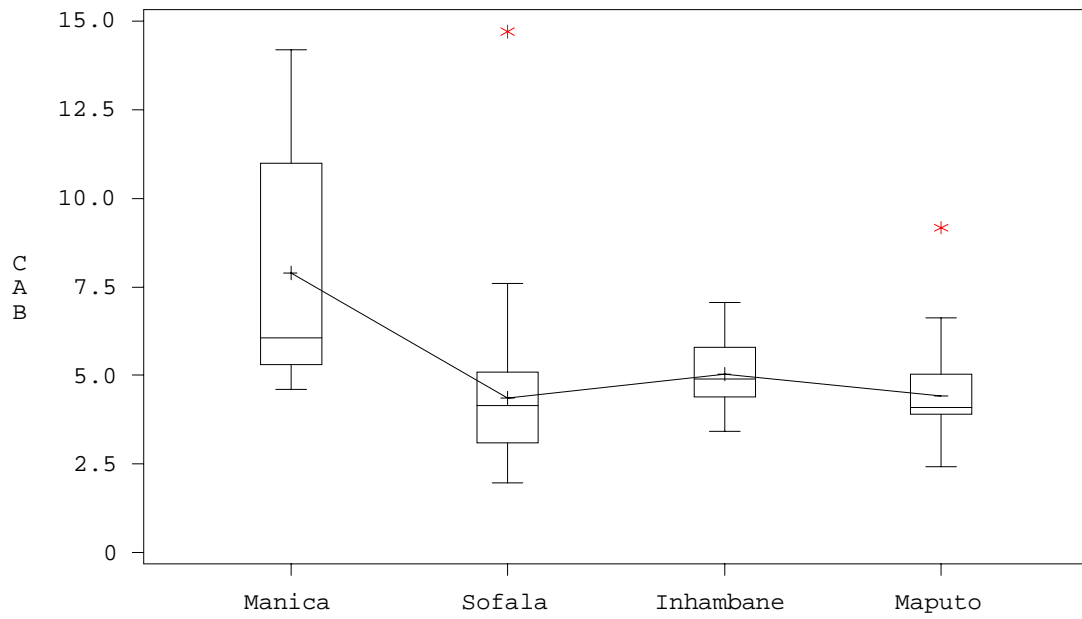


Figura VII- 40. Valores de Cab\* en las diferentes regiones de Mozambique

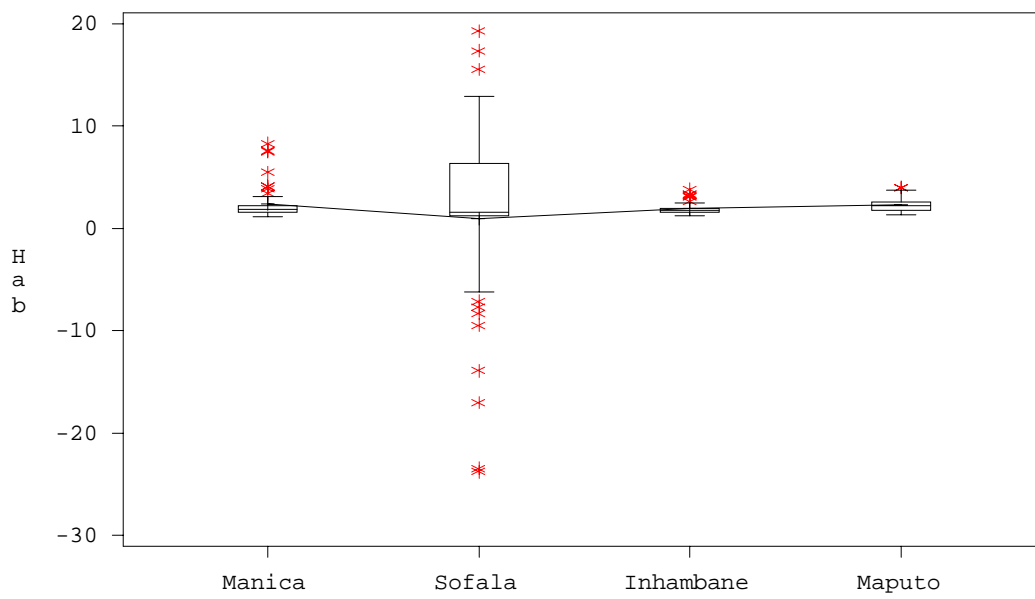


Figura VII- 41. Valores H\*ab de las diferentes regiones.

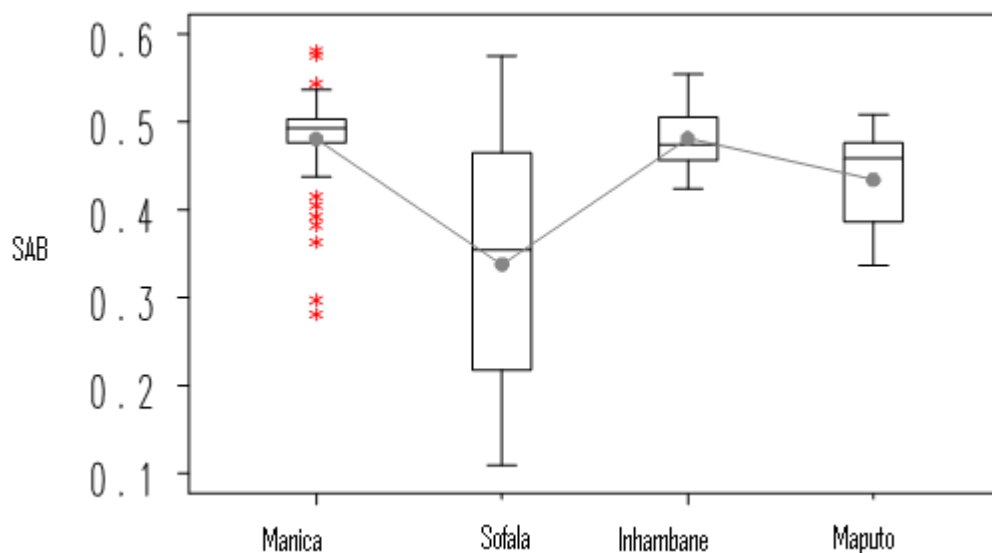


Figura VII- 42. Gráfico de los valores S\*ab en las diferentes regiones de Mozambique

Tabla VII- 18. Valores de p y F para niveles de confianza del 95 % y pruebas de la varianza para la variación de los valores de Croma, el Tono y la Saturación del color, para el iluminante D65, 10°, de la miel de las diferentes regiones.

Variables	ANOVA		Pruebas de Varianza		Prueba Kruskal Wallis (medianas) P
	F-Ratio	P-Value	Prueba Levene P	Prueba Bartlett P	
Croma C* <sub>ab</sub>	28,07	<.0001	<.0001	<.0001	0,0000
Tono, H* <sub>ab</sub>	0,88	0,4526	<.0001	<.0001	0,0323
Saturación, S* <sub>ab</sub>	0,21	0,8876	0,0056	<.0001	0,0000

**Prueba de comparación múltiples**

**Prueba Tukey comparación de 2 al 2**

**A - Manica B - Sofala C – Inhambane D - Maputo**

Comparación 2 al 2	Mínimo	Máximo	Diferencia
<b>croma</b>			
A - C	1,8	3,9	2,8
A - D	2,3	4,6	3,5
A - B	2,3	4,7	3,5
C - A	-3,9	-1,8	-2,8

## **VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**









**VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Abu-Tarboush, H., Al-Kahtani, H., El-Sarrage, M. (1993). Floral-type identification and quality evaluation of some honey types. *Food Chemistry*, 46, 13-17.
- Accorti, M., Piazza, M.G. Y Persano, L. (1986). Conduttività elettrica e ceneri nei mieli. *Apicolt Mod* 77 (4), 165-167.
- Accorti, M., Piazza, M.G. Y Persano Oddo, L. (1987). La Conductividad eléctrica y el contenido en cenizas de la miel. *Apiacta*, 22, 19-20.
- Acquarone, C., Buera, P., Beatriz, E. (2007). Pattern of Ph and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chemistry* 101, 695-703.
- Adams, M.R. Y Moss, M.O. (1997). *Microbiología de los Alimentos*. Acribia S.A., Zaragoza. pp 2; 28-29; 40. 122-123.
- Adcock, D. (1962). The effect of catalase on the inhibine and peroxide value honey. *Journal of Apicultural Research*, v.1, pp: 38-40.
- Ahmed, J., Prabhu, S.T., Raghavan, G.S.V., Ngadi, M. (2007). Physico-chemical, rheological, colorimetric and dielectric behavior of selected Indian honeys. *Journal of Food Engineering* 79: 1207-1213.
- Alamanni, M.C. (1994). Determinazione enzimatica di glucosio, fruttosio e saccarosio e ricerca di polisaccaridi del mais in campioni di miele. *La Rivista di Scienza dell'Alimentazione*, anno 23, n° 1, 81-86.
- Alcobia, J. J. F. (1995). *Apicultura*. Cooperativa de apicultores de Maputo. Nashua copy Print. Johannesburg-SA. pp:15- 98.
- Alcala, M. (1977). Actividad del agua de la miel y crecimiento de microorganismos osmotolerantes. *Trabajos científicos de la Universidad de Córdoba*, 20, 1-19.
- Alcala, M. y Gómez, R. (1990). Cálculo de la actividad de agua de la miel. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, mayo, 99-100.
- Allen, K.L., Molan, P.C., Reid, G.M., (1991). A survey of antibacterial activity of some New Zealand honeys. *J. Pharm. Pharmacol.* 43 (12), 817-822.
- AL-Khalifa, A.S., Al-Arif, I.A. (1999). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. *Food Chemistry* 67, p. 21-25.
- Alonso-Torre, S.R., Cavia, M.M., Fernández-Muiño, M.A., Moreno, G., Huidobro, J.F., Sancho, M.T. (2006). Evolution of acid phosphatase activity of honeys from different climates. *Food chemistry* 97, 750-755.

Al Somal, N., Coley, K.E., Molan, P.C., Hancock, B.M. (1994). Susceptibility of helicobacter pylori to the antibacterial activity of manuka honey. *J.R. Soc. Med.* 87 (1), 9-12.

Al-Waili, N.S. (2005). Mixture of Honey, Beeswax and Olive Oil Inhibits Growth of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Archives of Medical Research* 36: 10-13.

Andrade, P.B., Amaral, M.T., Isabel, P., Carvalho, J.C.M.F., Seabra, R.M., da Cunha, A.P. (1999). Physicochemical attributes and pollen spectrum of Portuguese heather honeys. *Food Chemistry* 66, p. 503-510.

Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry* 63, (4) p. 549 - 562.

Anklam, E., & Radovic, B. (2001). Suitable analytical methods for determining the origin of European honey. *American Laboratory*, 5,60-64.

Anónimo (1974). Manuel Suisse del Denrées Alimentaires. Office Central Fédéral des Imprimés et du Matériel, 23, Beena.

Anónimo (1975). Ministerio de Sanidad y Seguridad Social. Subsecretaria de la Salud. Direccion General de la Salud Pública y Sanidad Veterinaria. Subdireccion General de Sanidad Veterinaria.

Anónimo (1986). Orden de 12 de Junio de 1986, de la Presidencia del Gobierno por la que se aprueban los Métodos Oficiales de Análisis para la miel. BOE, núm. 145, de 18 de Junio de 1986.

Anónimo. (1987). DINAGECA. Atlas Geográfico de Mozambique. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Mozambique.

Anónimo. (2001a). Revised Codex Standard for Honey. Codex Stan 12-1981, Rev.1 (1987), Rev.2 .Codex Alimentarius. Roma

Anónimo. (2001b). Unidade de Inventário Florestal. Dirección Nacional de Florestas y Fauna Bravia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Mozambique.

Anónimo. (2003). Real Decreto 1049/2003 de 1 de Agosto de 2003, por el que se aprueba la norma de calidad relativa a la miel. BOE, 186: 30181-30183.

Anónimo. (2004). 6 de enero de 2005. Producción de miel <http://www.cpamn.embrapa.br/pesquisa/apicultura/mel/racas.htm>

Anupama, D., Bhat, K.K., Sapna, V.K. (2003). Sensory and physico-chemical properties of comercial samples of honey. *Food Research International* 36: p 183-191.

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis of AOAC International. 15th ed. Virginia. USA: Arlington.

- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Virginia. USA: Arlington.
- AOAC. (2003). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Revision 2. Volume II. Food composition; Aditives; Natural contaminantes. Horwitz, William. Gaithersburg, Maryland. 20877-2417 USA
- Arnon, S.S., Midura, T.F., Damus, K., Thompson, B., Wood, R.M. and Chin, J. (1979). Honey and other environmental risk factors for infant botulism. *J. Pediatr.*, 94, 331-336.
- Arnon, S.S., Damus, K., Y Chis, J. (1981). Infant botulism: epidemiology and relation to sudden infant death syndrome. *Epidemiol. Rev.*, 3, 45-66.
- Aubert, S. and Gonnet, M. 1983. Mesure de la couleur des miels. *Apidologie* 14, 105-118.
- Austin, G.H. (1953). Maintaining high quality in liquid and recrystallised honey. *Can. Bee. J. G1* (1), 10-12 Y 20-23.
- Balanza, M.E. (2003). Parámetros Físicos y Químicos de Relevancia para La Tipificación de la Miel Producida en la Provincia de Mendoza (Argentina). Tesis Doctoral, 24, 26.
- Bartoli, M. 1994. Microbiological studies on honeys produced by artisinal methods. *Industrie Alimentari*, 32 (316).
- Belitz, H.D. Y Grosch, W. (1988). *Química de los alimentos*. Ed. Acribia S.A., Zaragoza.
- Belitz, H.D. Y Grosch, W. (1997). *Química de los alimentos*. 2ª Ed. Acribia S.A., Zaragoza. pp: 152-173; 923-955.
- Benedetti, L., Pieralli, L. 1990. *Apicultura*. Ediciones Omega, S. A. Barcelona. pp:90-91; 152-154; 305-309.
- Biri, M. (1988). *Libro de las abejas*. Editorial de Vecchi, S.A. Barcelona. pp:143-150.
- Board, R.G. (1988). *Introducción a la microbiología moderna de los alimentos*. Ed. Acribia S.A., Zaragoza.
- Boehringer-Mannheim, (1995). *Métodos de análisis bioquímico y enzimático de los alimentos. D-Glucosa/D-Fructosa* (Cat. Nº 10716260035). Mannheim, Germany. Barcelona.
- Bogdanov, S., Martin, P., Lüllmann, C. (1997). Harmonized methods of the European Honey Commission. *Apidologie* (pp.1-59).
- Bogdanov, S., Lüllman, C., Martin, P., Von de Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G. (1999). Honey quality methods of analysis and international regulatory standards: Review of the work of the international honey Commission. *Mitteilungen Gerbeite Lebensmittel*, 108-125.
- Bogdanov, S. (2002). *Harmonised Methods of the International Honey Comission: Introduction and General Comments on the Methods*, Switzerland.

- Bogdanov, S. (2004). Contaminantes de la colmena. *Vida Apícola.*, 127:50-51.
- Bogdanov, S., Ruoff, K. Y Persano Oddo, L. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: A review. *Apidologie* 35, S4-S17.
- Bosch, W., Fulmer, E.I. Y Park, O.W. (1932). Studies on honeys and nectars. Rep. Ia St Apiar, 52-56. (Citado en Crane, 1975).
- Bosch-Reig, F. Y Mateo, R. (1984). Estudio sobre la conductividad eléctrica y el pH de algunos tipos de mieles monoflorales comerciales españolas (study on electrical conductivity an pH of some types of Spanish monofloral honeys). *El campo. Boletín Informativo Agrario*, 93, 97-100.
- Bosch, J. Y Serra, J. (1986). Evolución del contenido en hidroximetilfurfural en las mieles procesadas y situadas en el mercado español. *Alimentaria*, 179, 59.
- Bradbear, N. (2004). Apicultura y desarrollo rural. *Vida Apícola.*, 128:7.
- Bryan, A.H. (1908). *J. Am. Chem. Soc.*, 30. 1443-1451. Citado en White (1969).
- Bryan, F. L. (1992). Evaluaciones por analisis de peligros en puntos criticos de control. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. pp:5.
- Butta, A., Caserio, G., Bizzorezo, M. Y Colombo, M. (1983). Indagine sulla qualità merceologica e sulle caracteistiche microbiologiche di miele in commercio. *Industrie Alimentari*, noviembre, 838-844.
- Castle, L., Philo, M. R., Sharmon, M. (2004). The analysis of honey samples for residues of nitrobenzene and petroleun from the possible use of frow mixture in hives. *Food Chemistry*, 84, (4):643-649.
- Castro, R. M., Escamilla, M.J. Y Reig, R.B. (1992). Evaluation of the color of some Spanish unifloral honey types as a characterization parameter. *Journal of the AOAC International*, 75 (3) 537-542.
- Cavia, M.M., Fernández-Muiño, 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.
- Cavia, M.M., Fernández-Muiño, M.A., Alonso-Torre, S.R., Huidobro, J.F., Sancho, M.T. (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry* 100, 1728-1733.
- Censi, A. (1990). Clostridium botulinun tipo G nel miele. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria*, X, 125-129.
- Centorbi, H.J, Aliendro OE, Demo NO, Dutto R, Ferndez R, Centorbi ONP. First case of infant botulism associated with honey feeding in Argentina. *Anaerobe* 1999; 5:181-3.

- Chataway, H. D. (1932). Determinación of moisture in honey. *Can. J. Res.*, 6, 532-547.
- Chandler, B. (1977). Quality of Australian honeys. *CSIRO Fd. Res.* 37, 1-9.
- Cherchi, A., Porcu, M. Y Tuberoso, G. (1994a). Influenza dell'invecchiamento sulla qualità del miele. XVI Congresso Nazionale di Merceologia, Pavia, 310-319.
- Cherchi, A., Spanedda, L., Tuberoso, C. Y Cabras, P., (1994b). Solid-phase extraction and high-performance chromatographic determination of organic acids in honey. *Journal of Chromatography A*, 669, 59-64.
- Chirife, J. Y Fontant, F.C. (1980). The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. V. Experimental investigation of the aw lowering behaviour of sodium lactate and some related compounds. *Journal of food Science*, 45. 802-804.
- Cherife, J., Zamora, M.C., Y Motto, A. (2005). The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. *Journal of Food Engineering*, in press.
- CIE (1986). *Colorimetry*. 2nd Ed. Publication 15.2
- CIE LAB (1976). Committee TC.1.3.CIE. Proposal for study of color spaces and color difference equations (1974). *Journal of Opt. Soc.Am.* (64), 896-897.
- Codex Alimentarius Commission - CAC (1997). Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) System and Guidelines for its Application, Annex to CAC/RCP 1-1969, Rev. 3 1997. In "Food Hygiene Basic Texts", Codex Alimentarius Commission, FAO/WHO, Rome, 58p.
- Comenge, M. (1964). *Análisis de alimentos*. Tomo III. 3°. ED. Ed. Escallier, S.A. Madrid.
- Cooper, R.A., Molan, P.C., Harding, K.G. (1999). Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *J.R. Soc.Med.* 92 (6), 283-285.
- Corbella, E. y Cozzolino, D. (2006). Classification of the floral origin of Uruguayan honeys by chemical and physical characteristics combined with chemometrics. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 39, 534-539.
- Cordella, Ch., Militao, J.S., Clement, M-C., Cabrol-Bass, D. (2003). Honey characterization and adulteration detection by pattern recognition on HPAEC-PAD profiles. I. Honey floral species characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3234-3242.
- Cosentino, S., Tuberoso, C., Meloni, V., Cherchi, A., Mulargia, A.F., Porcu, M. y Palmas, F. (1994). Valorizzazione dei miele tipici sardi: aspetti microbiologici, botanici e fisico-chimici. *La Rivista di Scienza dell'Alimentazione*, anno 23 n°2, 199-207.



- Crane, E. (1975). Honey: A comprehensive survey. International Bee Research Association (IBRA). Ed. Heinemann. Londres.
- Crane, E. (1985). El libro de la miel. Fondo de cultura económica. México.
- Crespi, A. B. (1987). Cría Rentable de las Abejas. Editorial de Vecchi. Barcelona. pp : 63-97.
- Criseo, G., Bolignano, M.S. and de Leo, F. (1993). Isolation of *Clostridium botulinum* type B from Sicilian honeys samples. *Rivista di Scienza dell' Alimentazione*, 22(2), 175-81.
- D'Aray, B.R., Rintoul, G.B., Rowland, C.Y., Blackman, A.J., 1997. Composition of Australian honey extractives: 1. Norisoprenoids, monoterpenes and other natural volatiles from blue gum (*Eucalyptus leucoxylon*) and yellow box (*Eucalyptus melliodora*) honeys. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1834-1843.
- Da Azeredo, C.L., Azeredo, M.A.A., de Souza, S.R., Dutra, V. M. L.(2003). Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chem.* 80, 249-254.
- Devillers, J., Morlot, M., Pham-Delègue, M.H., Doré, J.C. (2004). Classification of monofloral honeys based on their quality control data. *Food Chemistry*, 86(2), 305-312.
- De Rodriguez, G.O., Sulbarán de Ferrer, B., Ferrer, A., Rodriguez, B. (2004). Characterisation of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*. 84, 499-502.
- Dodds, K.L. (1993). Worldwide incidence ecology of infant botulism, in *Clostridium botulinum*. Ecology and control in foods (eds. A.H.W. Hauschild and K.L. Dodds), Marcel Dekker, New York, pp. 105-17.
- Dold, H, DU, D.H. Y Dziao, S.T. (1937). Nachweis antibakterieller hitzeund lichtempfindlicher hemmungsstoffe (inhibine) im naturhonig blütenhonig. *Z. Hyg. Infektionskr*, 120, 155-167.
- Downey, G., Hussey, K., Kelly, J.D., Walshe, T.F. Y Martin, P.G. (2005). Preliminary contribution to the characterisation of artisanal honey produced on the island of Ireland by palynological and physico-chemical data. *Food Chemistry* 91: 347-354.
- Esteban -Quilez, M.A Y Marcos Barradas, A. (1996). Water activity of honey and the growth of osmotolerant yeast (in Spain). *Anales Bromatologia*, 28 (1), 33-34.
- Esti, M., Panfili, G., Marconi, E., Trivisomo, M.C., (1997). Valorization of the honeys from the Molise region through physico-chemical, organoleptic and nutritional assessment. *Food Chem.* 58 (1-2), 125-128).

Estupiñán, S., Sanjuán, E., Millán, R., Castelo, M. Y Cardona, A. (1995). Aportación al estudio de la calidad en mieles artesanales de Gran Canaria. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, noviembre, 57-60.

Estupiñán, S., Sanjuan, E., Millan, R., Y Gonzalez Cortes, M.A. (1998). Quality parameters of honey. II. Chemical composition. A. review. *Alimentaria*, N° 297, 117-122.

European Comission Health & Consumer Protection (2002). Opinion of the Scientific Committee on veterinary measures relating to public health on honey and microbiological hazards – Directorate C- Scientific Opinions. Council Directive 2001/110/EC relating to honey.

FAOSTAT. 2004. 3 de Marzo de 2005. FAOSTAT Database. <http://faostat.fao.org/faostat/servlet>.

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

Fodor, P. Y Molnar, E. (1993). Honey as environmental indicator: effect of sample preparations on trace element determination by ICP-AES. *Mikrochimica Acta*, 112, 113-118.

Francis, C. y Gontier, F. (1983). *El libro de la miel*. Madrid. Edaf.

Frías, I. Y Hardisson, A., Corrales, R., Muñoz, V. (1991). Color y contenido mineral en mieles de consumo frecuente en Santa Cruz de Tenerife. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, mayo, 93-98

Frias, I. Y Hardison, A. (1991). Estudio comparativo entre mieles comerciales y artesanales de Santa Cruz de Tenerife. *Alimentación Equipos y Tecnología*, noviembre, 129-131.

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

Gámbaro, A., Ares, G., Giménez, A., Pahor, S. (2007). Preference Mapping of color of Uruguayan honeys. *Journal of Sensory Studies* 22: 507-519.

Garnery, L. (2004). Cómo preservar las razas locales de abejas, progresos de la genética. *Vida Apícola.*, 128:6-7.

Garcia, M., Pérez-Arquillue, C., Juan, T., Juan, M. I., Herrera, A. (2001). Pollen Analysis and Antibacterial Activity of Spanish Honeys. *Food Science & Technology*; 7(2): 155-158.

Gentry, C. 1982. *La apicultura de pequeña escala*. Manual M0025. Editado por Peace Corps. Barcelona. pp :13-14.

Gil, J. M. S. 1986. *Apicultura*. Editorial Aedos. Barcelona pp: 266-272.

- Gyorik, M., Herpai, Z., Szecsenyi, I., Varga, L., Szigeti, J. (2003). Rapid and sensitive determination of phenol in honey by high – Performance Liquid Chromatography with fluorescence detection. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 51, (18):5222 – 5225.
- Golob, T., y Plestenjak, A. (1999). Quality of Slovene honey. *Food Technology and Biotechnology*, 37(3), 195-201.
- Gómez, R., Cabezas, L., Alcalá, M. Y Fernández-Salguero, J. (1990). Determinación y cálculo de la actividad de agua en diferentes muestras de miel. *Alimentaria*, marzo, 33-36.
- Gómez-Díaz, D., Navaza, J.M., Quintáns-Riveiro, L.C.(2006). Rheological behaviour of Galician honeys. *Eur Food Res Technol* 222: 439-442.
- Gonnet, M. Y Lavie, P. (1960). Influence du chauffage sur le facteur antibiotique present dans le miel. *Ann Abeille*, 34, 349-364.
- González, M., de Lorenzo, C. 2002. Calidad sensorial de las mieles de Madrid: (II) correlación con el análisis instrumental. *Alimentaria*. Abril, 103.
- Graça, M. (1987). Contribuição para o estudo do mel, polen, geleia real e propólis. *Bol. Fac. Farm. Coimbra*, 11 (2), 17-47.
- Guizelan, G. Y Guizelan, R. (1971). Données concernant les éléments minéraux dans quelques sortes de miel. *Proc. 23th Inter., Congr. Apic. (Mosú)*. Apimondia.
- Gupta, J.K., Kaushik, R., & Joshi, V. K. 1992. Influence of different treatments, storage temperature and period on some physico-chemical characterisation and sensory qualities of Indian honey. *Journal of Food Science & Technology*, 29(2), 84-87.
- Hadorn, H., Zucher, K. y Doevelaar, F. H. (1962). Über wärme und lagerschädigungen von bienenhonig. *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 53 (3), 191-229.
- Haydee, L. (1989). Análisis de calidad de miel. *Alimentos*, 14 (4), 55-60.
- Hernández, O.M., Fraga, J.M.G., Jiménez, A.I., Jiménez, F., Arias, J.J. (2005). Characterization of honey from the Canary Islands: determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. *Food Chemistry*. 93: 449-458.
- Hocking, A.D. (1988) Moulds and yeasts associated with foods of reduced water activity: ecological considerations, in *Food Preservation by Moisture Control* (ed. C.C. Seow), Proc. Conference Penang, Malaysia 21-24 September 1987, Elsevier Applied Science Publishers 57-72.
- Humbel, L. (2004). Apiterapia, una solución integral de la salud en un espíritu de desarrollo sostenible. *Vida Apícola.*, 128:14-15.
- Huidobro, J.F.; Simal, J.; (1984a). Mieles de Galicia. *El campo*, 93,86.

- Huidobro, J.F.; Simal, J.; (1984b). Parámetros de Calidad de la miel VI: hidroximetilfurfural. *Offarm*, 3 (12), 767.
- Huidobro, J.F.; Simal, J.; (1984c). Parametros de Calidad de la miel V: índice de diastasas. *OFFARM*, 3 (11), 705.
- Huidobro, J.F.; Simal, J.; (1984d). Parámetros de Calidad de la miel IV: Cenizas. *Offarm*, 3 (10), 619-621.
- Huidobro, J.F.; Simal, J.; (1984e). Contribución a la determinación a la determinación de azúcares en la miel. *Anales de la Bromatología*, XXXVI-2, 274-264.
- Huidobro, J.F.; Simal, J.; (1984f). Determinación del color y la turbidez en las mieles. *Anal.Bromotol.* 36(2) ,225-245.
- Huidobro, J.F.; Simal, J.; (1985b). Parámetros de Calidad de la miel VIII: Comentarios resultados encontrados en muestras comerciales. *Offarm*, 4 (2), 69.
- Huidobro, J.F., Estrella, R. M., Branquinho de Andrade, P. C., Sánchez, M.P., Sancho, M.T., Muniategui, S. and Simal-Lozano, J. (1994). Enzymatic determination of primary normal alcohols as apparent ethanol content in honey. *Journal of Apicultural and Food Chemistry*, 42 1975-1978.
- Huidobro, J.F., Santana, F.J., Sánchez, M.P., Sancho, M.T., Muniategui, S. Y Simal, J. (1995). Diastase, invertase and B-glucosidase activities in fresh honey from north-west Spain. *Journal of Apicultural Research*, 34 (1), 39-44.
- Hutchings, (1977). En *Avances en análisis sensorial y paneles de cata* (León y Galán, 1991).
- ICMSF (1980). *Ecología microbiana de los alimentos. 1: Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos*. Ed. Acribia S.A., Zaragoza.
- ICMSF (2001). *Ecología microbiana de los productos alimentarios. Microorganismos de los alimentos*. Ed. Acribia S.A., Zaragoza.
- Iglesias, M. T., de Lorenzo, C., Polo, M.C., Martín-Álvarez, P.J., y Pueyo, E. (2004). Usefulness of amino acid composition to discriminante between honeydew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 84-99.
- INE. 2004. [http:// www.ine.gov.mz](http://www.ine.gov.mz).
- Iurlina, M.O. y Fritz, R. (2005). Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. *International Journal of Food Microbiology* 105: 297–304.
- Jamoussi, B., Zafaouf, M. Y Hassine, B. (1995). Hybride generation/condensation suestem with an inductively coupled argon plasma polychromator for simultaneous determination of

arsenic, antimony, selenium, lead, mercury and tin in honey. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 61, 249-256.

Jay, J.M. (1994). Microbiología de los alimentos. Ed. Acribia S.A., Zaragoza.

Jean-Prost, P. (1987). Apicultura. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid pp : 153 – 162.

Jermiñi, M.F.G., Geiges, O. and Schmidt-Lorenz, W. (1987) Detection, isolation and identification of osmotolerant yeasts from high-sugar products. J. Food Prot., 50(6), 468-72, 478.

Jeurig, H.J. Y Koppers, FJEM. (1980). Journal Assoc. Off. Anal. Chem., 63 (6). 1215-1218. Citado en Pérez et al. 1990b.

Jiménez, M., Mateo, J.J., Huerta, T. Y Mateo, R. (1994). Influence of the storage conditions on some physicochemical and mycological parameters of honey. Journal Science Food Agriculture, 64, 67-74.

Jooste, A., Smith, W. (2004). Report on honey. External Market Study nº. 3. Ministério de Industria y Comércio. Mozambique.3: 2-3.

Kenjeric, D., Mandic, M.L., Primorac, L., Bubalo, D., Perl, A. (2007). Flavonoid profile of Robinia honeys produced in Croatia. Food Chemistry, 102: 683-690.

Krauze, A., Y Zalewski, R.L. (1991). Classification of honeys by principal component analysis on the basis of chemical and physical parameters. Zeitschrift Für Lebensmitteluntersuchung und-forschung, 192, 19-23.

Krauze, A. Y Krauze, J. (1991). Changes in chemical composition of stored honeydew honeys. Acta Alimentaria Polonica, vol XVII/XLI, nº2, 119-125.

Labuza, T.P., Acott, K., Tatini, S.R., Lee, R.Y., Flink, J. Y McCall, W. J. (1976). Water activity determination: a collaborative study of different methods. Journal of Food Science, 41,910-917.

La Serna Ramos, I., Méndez Pérez, B., Gómez Ferreras, C. (1999). Aplicación de nuevas tecnologías en mieles canrias para su tipificación y control de calidad. Servicio de Publicaciones de la Caja General de Ahorros de Canarias, Tenerife.

Laude, V.T., Naegel, L. Y Horn, H. (1991). The physicochemical properties of some Philippine honeys. Apidologie, 22 (4), 371-380.

Lavie, P. (1960). Les substances antibactériennes dans la colonie d'abeilles (Apis mellifera L.) Ann. A beille, 3 103-305.

Lavie, P. (1963). Sur l'identification des substances antibactériennes presentes dans le miel. CR Acad.Sci. Paris, 256, 1858-1860.

Lázaro, F.J., (1974). Tesina de Licenciatura. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba, España.

Lázaro, F.J., (1977). Propiedades de sorción de humedad de los alimentos semisecos: actividad del agua de algunas mieles comerciales. Trabajos científicos de la Universidad de Córdoba, España.

Leveau, J.Y. Y Bouix, m. (1979) Study of the extreme growth conditions for osmophilic yeast (in French). *Industries Alimentaires et agricoles*, 96 (11), 1147-50.

López, B., Latorre, M.J., Fernández, M.I., García, M.A., García, S. Y Herrero. C. (1996). Chemometric classification of honeys according to their type based on quality control data. *Food Chemistry*, 55 (3), 281-287.

López, S.E. (1998). Estudio para la Caracterización de mieles artesanales de Gran Canaria. Tesis Doctoral.

Louveaux, J. (1985). Le miel. *Cah. Nutr. Diét.*, XX, 1, 57-70.

Madrid, A., Cenzano, I., Vicente, J.M. (1994). Manual de Industrias Alimentarias, AMV Ediciones. Mundi-Prensa. Madrid.pp: 465-467.

Madrid, J.M., Madrid, A. (1990). Alimentación equipos y tecnología. Mayo, 92.

Martín, E.C. (1958). *Bee World*, 39, 165. Citado en Rügge y Blanc. 1981.

Martinez, P. (1984). Producción y comercio de los productos apícolas en España. Primer congreso Nacional de Apicultura. Olmedo, J.B.M., Barrio.C.C.S., Madrid. pp: 55-56.

Martínez, M.E., Guerra, E., Montilla, J. Y Molins, J.L. (1993). Physicochemical analysis of Spanish commercial Eucalyptus honeys. *Journal of Apicultural Research*, 32 (3/4), 121-126.

Martos, I., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F.A., (2000). Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus honey. *J. Agric. Food Chem.* 48, 1498-1502

Mateo, R. y Bosch-Reig, F. (1998). Classification of Spanish unifloral honeys by discriminant analysis of electrical conductivity, color, water content, sugars and Ph. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 46(2), 393-400.

McGregor, S.E. (1979). La apicultura en los Estados Unidos. Ed. Limusa, Mexico.

Mico, J.P. 1984. El control de calidad de los productos Apícolas en el mercado interior Español. Primer congreso Nacional de Apicultura. Olmedo, J.B.M., Barrio.C.C.S., Madrid. pp: 104-106.

Millán, R., Tudela, L., Estupiñan, S., Castelo, M. Y Sanjuán, E. (1995). Contribución al cálculo de la actividad de agua en la miel: modelo de predicción de aw en mieles de Las Palmas. *Alimentaria*, 268, 77-79.

Molan, P.C. Y Russell, K. M. (1988). Non peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys. *J. Apic. Res.*, 27, 62-67.

Molan, P.C. Y Russell, K. M. (1989). Non peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys. *J. Apic. Res.*, 27, 62-67.

Molan, P.C. (1992a). The antibacterial activity of honey. The nature of the activity. *Bee world*, 73 (1): pp: 5-28.

Molan, P.C. (1992b). The antibacterial activity of honey. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee world*, 73 (1): pp: 59-76.

Molan, P.D. (1996). In *Food Authentication*, Eds P. R. Asmhurts and M. J. Dennis. Chapman and Hall, London.

Montero, V., Osorio, E. Y Lozano, M. (1988). Datos físico-químicos para una posible identificación de mieles de distinto origen floral. III Congreso Nacional de Apicultura. Excma. Diputación Provincial de Guadalajara, 311-315.

Montes, A.L. (1966). *Bromatología II*. Ed. Universitaria, Buenos Aires.

Mora, M.T. (1977). Actividad del agua de la miel y retención de sustancias volátiles aromáticas. *Trabajos científicos de la Universidad de Córdoba*, 21, 1-23.

Moreira, R.F.A y De Maria, C.A.B. (2001). Glúcidos no mel. *Quim. Nova* 24 (4) 516-525.

Moreno, F., Y De la Torre, M.C. (1979): *Lecciones de Bromatología. I y II*. Universidad de Barcelona, Facultad de Farmacia.

Mossel, D.A.A., Moreno, B., Struijk, C.B. (2003). *Microbiología de los Alimentos. Fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la integridad (inocuidad y calidad) microbiología de los alimentos*. Editora Acribia S.A., Zaragoza. Pp 248, 251.

Mostafa, A., Ahmed, A. Y Mahmoud, M. (1982). Studies of Libyan honeys. *Journal of Food Quality*, 4, 185-201.

Murphy, M., Cowan, C., Henchion, M. y O'Reilly, S. (2000). Irish consumer preferences for honey: A conjoint approach. *Br. Food J.* 102, 585-597.

Mutinelli, F. 2004. Hacia un manejo sanitario integral de las colmenas. *Vida Apícola.*, 128:8-9.

Nagai, T., Inoue, R., Kanamori, N., Suzuki, N., Nagashima, T. (2006). Characterization of honey from different floral sources. Its functional properties and effects of honey species on storage of meat. *Food Chemistry* 97: 256-262.

Nakano, H., Yoshikuni, Y., Hashimoto, H. Y Sagaguchi, G. (1992). Detection of *Clostridium botulinum* in natural sweetening. *Int. J. Food Microbiol.* 16, 117-121.

- Nakano, H., Kizaki, H. Y Sagaguchi, G. (1994). Multiplication of *Clostridium botulinum* in dead honey-bees and bee pupie, a likely source of heavy contamination of honey. *Int. J. Food Microbiol.* 21, 247-252.
- Nevas, M., Hielm, S., Lindostrom, M., Horn, H., Koivulehto, K., Korkeala, H. (2002). High prevalence of *Clostridium botulinum* types A and B in honey samples detected by polymerase chain reaction. *Int J Food Microbiol* 72:45-52.
- Noa, M. Y Mas R. (1998). Effect of D-002 on the pre-ulcerative phase of carrageenan-induced colonic ulceration in the guinea pig. *J Pharma Pharmacol.* 50: 549-553.
- Norrish, R.S. (1966). An equation for the activity coefficients and equilibrium relative humidities of waterin confectionary syrups. *Jounal of Food Technology*, 1, 25-39.
- Ortiz, A. (1988). Algunas características físico-químicas de 10 muestras de miel de la Alcarria. III Congreso Nacional de Apicultura. Excma. Diputación Provincial de Guadalajara, 171-177.
- Ortiz Valbuena, A. Y Silva Losada, M.C. (1990).Caracterización cromatica (CIE L10, a10, b10) de las mieles de la alcarria y zonas adyacentes. *Cuad. Apic.*3, 8-11.
- Ouchemoukh, S., Louaileche, H. Y Schweitzer, P. (2006). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18, 52-58.
- Pajuelo, A. G. (2004). Mieles de España y Portugal. Montagud Editores. Barcelona. pp:30-38.
- Pascual Anderson, M. R. (1992). Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. Díaz de Santos, Madrid.
- Pascual, M.R., Calderón, V. y Pascual. (2000). Microbiología Alimentaria. Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas. Ed. Díaz de Santos, S.A. Madrid.
- Pereyra Gonzales, A., Burlin, L., Pila Buera, M. del (1999). Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. *Food Research International*, 32(3), 185-191.
- Pérez-Arquillué, C., Benito, M.<sup>a</sup>.F.J. (1985). Manejo y alteraciones de la miel. En: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Publicaciones de Extensión Agraria. Madrid. pp: 2-4.
- Pérez-Arquillué, C., Conchello, P., Ariño, A., Ucar, A. Y Herrera, A. (1990a). Estudios de algunos parámetros físico-químicas en mieles monoflorales de Zaragoza. *Alimentaria*, junio, 59-61.
- Pérez-Arquillué, C., Conchello, P., Ariño, A., Ucar, A. Y Herrera, A. (1990b). Evaluación del grado de frescura en mieles de Zaragoza. *Anales de Bromatología*, XLII-1, 99-105.



- Pérez-Arquilué, C., Conchello, P., Ariño, A., Juan, T. Y Herrera, A. (1994). Quality evaluation of Spanish rosemary (*Rosmarinus officinalis*) honey. *Food Chemistry*, 51, 207-210.
- Pérez-Arquilué, C., Conchello, P., Ariño, A., Juan, T. Y Herrera, A. (1995). Physicochemical attributes and pollen spectrum of some unifloral Spanish honeys. *Food Chemistry*, 54(2), 167-172.
- Perez-Cerrada, M., Herrero- Villen, M.A., Maquieira, A. (1989). Sugar rich food: determination of inorganic anions by ionic chromatography. *Food Chemistry* 34, 285-294.
- Piana, G., Ricciardelli, G., Isola, A. 1989. *La Miel*. Ediciones Mundi-Prensa.Madrid. pp: 21- 45.
- Pitt, J.I. and Hocking, A.D. (1985). *Fungi and Food Spoilage*. Academic Press, Sydney.
- Poiana, A., Fuda, S., Manziu, E., Postorino, S. Y Mincione, B. (1996). Ricerche sui mieli commercializzati in Italia: la componente minerale. *Industrie Alimentari*, XXXV, 522-530.
- Popek, S. (1998). Electrical conductivity as indicator of the quality of néctar honeys. *Forum Ware*, 1-4, 75-79.
- Popek, S. (2002). A procedure to identify honey type. *Food Chemistry*, 79, 401-406
- Porrini, C. (2004). La abeja como bioindicador del medio ambiente. *Vida Apícola.*, 128:7-8.
- Przybylowski, P., Wilczynska, A. (2001). Honey as an enviromental marker. *Food Chemistry* 74: 289-291.
- Rall, V.L.M., Bombo, A.J., Lopes, T.F., Carvallho, L.R. Y Silva, M.G. (2003). Honey consumption in the state of Sao Paulo: Risk to human health? *Food microbiology*. 299-303.
- Ramírez Cervantes, M.A., González Novelo, S. A., Sauri Duch, E. (2000). Effect of the temporary thermic treatment of honey on variation of the same during storage. *Apiacta*, 35(4), 162-170.
- Rashed, M.N. y Solton, M.E. (2004). Major and trace elements in different types of Egyptian mono-floral and non-floral bee honeys. *Journal of Food Composition and Analysis*. 17, 725-735.
- Riolobos, S. (1988). Anotaciones sobre la composición de las mieles de Villuerca-Ibores (Extremadura) para los parámetros de la norma de la miel. III congreso Nacional de Apicultura. Excma. Diputación Provincial de Guadalajara, 263-265.
- Rodríguez-Otero, J.L., Paseiro, P., Simal, J., Terradillos, L. y Cepeda, A. (1992). Determination of Na, K, Mg, Cu, Fe, Mn and total cationic miliequivalents in Spanish comercial honeys. *Journal of Apicultural Research*, 31 (2), 65-69.

Rodríguez-Otero, J.L., Paseiro, P., Simal, J. y Cepeda, A. (1994). Mineral content of the honeys produced in Galicia (north-west Spain). *Food Chemistry*, 49, 169-171.

Rodríguez-Otero, J.L., Paseiro, P., Simal, J., Terradillos, L. y Cepeda, A. (1995). Silicon, phosphorus, sulphur, chlorine and ash contents of Spanish commercial honeys. *Lebensm Unders Forsh*, 200, 233-234.

Ross, K.D. (1975). Estimation of water activity in intermediate moisture foods. *Food Technology*, 29, 26-34.

Rüegg, M. Y Blanc, B. (1981). The water activity of honey and related sugar solutions. *Lebensm Wiss Technol*, 14, 1-6.

Ruiz, T. Y Rodríguez, A. (1973). Gluconic acid-producing bacteria from honey bees and ripening honey. *Journal of General Microbiology*, 76, 211-216.

Ruiz Argueso, T. Y Rodriguez Navarro, A. (1975). Microbiology of ripening honey. *Appl. Microbiol.*, 30(6), 893-6.

Russell, K.M., Molan, P.C., Wilkins, A.L. Y Holland. P.T. (1990). Identification of some antibacterial constituents of New Zealand Manuka honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 10-13.

Sabatini, G., Persano, L., Piazza, M., Accorti, M. Y Nanetti, A. (1989). Glucide spectrum in the main Italian unifloral honeys I: fructose and glucose. *Apicoltura- Rivista Scientifica di Apidologia*, 5: 35-46.

Sabatini, A. (1991). II Miele: origine, composizione, propretá. *L'Italia Agrícola*, 1, 151-160.

Salamanca, G. G., Alvez L. R., Serra, B. J. A.(2001). Naturaleza del color de algunas mieles tropicales de *Apis mellifera* en el departamento de Boyacá. *Apiservices*.

Salinas, F., Montero, V., Lozano, M. Y Sánchez, J. (1994a). Análisis discriminante aplicado a parámetros físico-químicos de mieles extremeñas. *Investigación Agraria, producción y protección de los vegetales*, vol. 9, 2, 221-228.

Salinas, F., Montero, V., Osorio, E. Y Lozano, M. (1994b). Determinación de elementos minerales en mieles de diversos orígenes florales por análisis de inyección en flujo acoplado a la espectroscopía atómica. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 34, 441-449.

Salinas, F., Álvarez, P., Montero, V. Y Lozano, M. (1994c). Estudio de los parámetros físico-químicos de mieles mediante el modelo Rasch. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 34, 672-683.

Sánchez, D. Y Pujola, M. (1996). Mieles andaluzas, extremeñas y gallegas: composición mineral. *Vida Apícola*, 78, 56-60.

Sancho, M.T., Muniategui, S., López, J., Simal, J. Y Huidobro, J.F. (1990). Comparación de los métodos de cromatografía líquida de alta resolución y enzimático para la determinación de fructosa y glucosa en la miel y análisis rápido de otros azúcares. *Anales de Bromatología*. XLII-1, 71-81.

Sancho, M.T., Muniategui, S., Huidobro, J.F. Y Simal, J. (1991a). Mieles del País Vasco I: pH y tipos de acidez. *Anales de la Bromatología*, XLIII-1, 77-86.

Sancho, M.T., Muniategui, S., Huidobro, J.F. Y Simal, J. (1991b). Mieles del País Vasco III: agua y azúcares. *Anales de la Bromatología*, XLIII-1, 101-112.

Sancho, M.T., Muniategui, S., Huidobro, J.F. Y Simal, J. (1991c). Mieles del País Vasco VIII: análisis cluster aplicado a los parámetros físico-químicos. *Anales de la Bromatología*, XLIII-2/3, 267-273.

Sancho, M.T., Muniategui, S., Huidobro, J.F. Y Simal, J. (1991d). Mieles del País Vasco X: Tendencia a la granulación. *Anales de la Bromatología*, XLIII-2/3, 283-292.

Sancho, M.T., Muniategui, S., Sánchez, P., Huidobro, J.F. Y Simal, J. (1991e). Mieles del País Vasco XI: Evaluación de los distintos tipos de Cenizas y su alcalinidad en función de la conductividad eléctrica en mieles. *Anales de la Bromatología*, XLIII-4, 311-324.

Sancho, M.T., Muniategui, S., Huidobro, J.F. Y Simal, J. (1991f). Provincial classification of Basque Country (northern Spain) honeys by their chemical composition. *Journal of Apicultural Research*, 30 (3/4), 168-172.

Sancho, M.T., Muniategui, S., Sánchez, P., Huidobro, J.F. Y Simal, J. (1991g). Relationships between electrical conductivity and total sulphated ash contents in Basque honeys. *Apidologie*, 22, 487-494.

Sancho, M.T., Muniategui, S., Huidobro, J.F. Y Simal, J. (1991h). Correlation between electrical conductivity of honey in humid and dry matter. *Apidologie*, 22, 221-227.

Sancho, M.T., Muniategui, S., Sánchez, P., Huidobro, J.F. Y Simal, J. (1992a). Evaluating soluble and insoluble ash, alkalinity of soluble and insoluble ash and total alkalinity of ash in honey using electrical conductivity measurements at 20 °C. *Apidologie*, 23, 291-297.

Sancho, M.T., Muniategui, S., Cancela, R., Huidobro, J.F. Y Simal, J. (1992b). Honey from the Basque country of Spain. VIII. Cluster analysis applied to physicochemical parameters. *Anales de Bromatología*; 43, (2/3) 267-273.

- Sanjuán, E., Estupiñán, S, Millán, R., Castelo, M., Penedo, J.C. Y Cardona, A. (1997). Contribution to the quality evaluation and the water activity prediction of La Palma Island honey. *Journal of Food Quality*, 20, 225-234.
- Sanz, B. Y Triguero, A. (1970). Composición química y espectro polínico de mieles españoles. *Anales de Bromatología*, XXII, 377-406.
- Sanz, S., Pérez, C., Herrera, A., Sanz, M. Y Juan, T. (1994). La Rioja honey composition. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 34 (5), 540-552.
- Sanz, S., Gradillas, G., Jimeno, F., Pérez, C. Y Juan, T. (1995). Fermentación problem in Spanish North-Coast Honey. *Journal of Food Protection*, 58 (5), 515-518.
- Sanz, S., Pérez, C., Herrera, A., Sanz, M. Y Juan, T. (1995). Application of a statistical approach to the classification of honey by geographic origin. *Journal Science Food Agriculture*, 69, 135-140.
- Sato, T., Miyata, G. (2000). The nutraceutical benefit, Part III: Honey. *Nutricion* 16: 468-469.
- Sauri, E. Y Hernández, C. (1994). Characterization of honeys gathered from Tahonal (*Viguiera dentata*, var. *Heliantoides*) and Tzi'tzil'che (*Gimnapodium antigonoides*, Blake) flowers by their mineral content utilizing discriminant analysis. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 34 (4) 450-457.
- Schade, J.W., Marsh, G.L. Y Eckert, J.E. (1958). Diastase activity and hidroxymethylfurfural in honey and their usefulness en detecting heat alteration. *Foods Res.*, 23, 446-463
- Serpe, L., Castellano, V. 1993. Organophosphoratus pesticides in honey. *Industrie Alimentari*, 32 (315):512-513.
- Serra, J. (1986). La cristallisation du miel, Facteurs que l'affectent. *Bull. Tech. Apic.*, 54, 13 (1), 37-48.
- Serra, J. Y Gómez, A. (1986). Determinación de la miel adulterada. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 4, 143.
- Serra, J., Gómez, A. Y Gonell, J. (1987). Composición, propiedades físico-químicas y espectro polínico de algunas mieles monoflorales de España. *Alimentaria*, 185, 61-84.
- Serra, J.(1988a). Proprièts physico-chimiques, composition et spectre pollonique des miels de *Lavandulla latifolia* med. Produits en Espagne. *Sciences des Aliments*, 8, 295-307.
- Serra, J. (1988b). Determinación del antranilato de metilo en la miel de Cítricos (*Citrus* sp) del Levante español y su influencia en la actividad diastásica de la miel. *Alimentaria*, 197, 38.

- Serra, J. Y Cañas, S. (1988). Caratteristiche fisico-chimiche, composizione e spettro pollinico del miele di eucalipto (*Eucalyptus* spp.) prodotto in Spagna. *Apicoltura*, 4, 59-81.
- Serra, J. Y Ventura, F. (1993). Physico-chemical properties, composition and pollen spectrum of french lavender (*Lavandula stoechas*, L.) honey produced in Spain. *Lebensm Unters Forsch*, 196, 511-517.
- Serra, J. Y Granados, E. (1993). Physicochemical properties, composition and pollen spectrum of ling heather (*Calluna vulgaris*, (L) Hull) honey produced in Spain. *Apidologie*, 24, 586-596
- Serra, J. Y Escolá, R. (1993). The microbiological quality of honey as determined by aerobic colony counts. *Journal of Food Protection*, 56, 336-337.
- Serra, Y Ventura, F. (1995). Characterization of citrus honey (*Citrus* spp.) produced in Spain. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 43, 2053-2057.
- Serrano, B.R. B., Vilanueva, M. T. O., Marquina, A. D. (1994a). La miel. Edulcorante natural. I. Origen, clasificación y propiedades. *Alimentaria*. Junio, 25-28.
- Serrano, B.R.B., Vilanueva, M.T.O., Marquina, A.D. (1994b). La miel. Edulcorante natural. II. Composición, producción y legislación. *Alimentaria*. Junio, 29-35.
- Serrano, S., Villarejo, M., Espejo, R., Jodral, M.L. (2004). Chemical and physical parameters of Andalusian honey: classification of Citrus and Eucalyptus honeys by discriminant analysis. *Food Chemistry*.
- Serrano, S., Espejo, R., Villarejo, M., Jodral, M.L. (2007). Diastase and invertase activities in Andalusian honeys. *International Journal of Food Science and Technology*. 42, 76-79.
- Siddiqui, I.R. (1970). The sugars of honey. *Adv. Carbohydrate Chem. And Biochem.* 25. 285-309.
- Simal, J., Huidobro, J.F. Y Araquistain, (1983a). Parámetros de calidad de la miel: determinación del contenido en agua. *Offarm*, 2 (7/8), 343-349.
- Simal, J., Huidobro, J.F. Y Araquistain, (1983b). Parámetros de calidad de la miel: determinación de la intensidad de color. *Offarm*, 2 (9), 391-395.
- Simal, J. Y Huidobro, J.F. (1984). Parámetros de calidad de la miel III: acidez (pH, libre, láctica y total) e índice de formol. *Offarm*, 3 (9), 523.
- Singh, N., y Kuar Bath, P. (1997). Quality evaluation of different types of Indian honey. *Food Chemistry*. 58 (1-2)129-133.
- Singh, N., y Kuar Bath, P. (1998). Relationship between heating and hidroxymetylfurfural formation in different honey types. *Journal of Food Science & Technology*, 35, (2):154-156.

- Snowdon, J.A. y Cliver, D.O., 1996. Review article. Microorganisms in honey. *Int. J. Food Microbiol.* 31, 1-26.
- Solomon, H.M. Y Lilly T. (2001). *Clostridium botulinum*. In: *Bacteriological analytical manual*, 8th ed.(Chapter 17), <http://vm.cfsan.fda.gov/ebam-toc.html>.
- Sorria, A. C., González, M., de Lorenzo, C., Martínez-Castro, I., 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.
- Sporns, P. 1982. Present and future challenges for the Alberta honey industry. *Agriculture & Forestry Bulletin*, 5, (2):37-39.
- Swallow, K. Y Low, N. (1990). Analysis and quantitation of the carbohydrates in honey using high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1828-1832.
- Taormina, P.J., Niemira, B.A., Beuchat, L.R., (2001). Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *Int.J.Food Microbiol.*69 (3), 217-225.
- Taberly, O., Y Monteiro, E. (1961). Influence de la teneur eau du miel. *Bull. Apicole*, 4, 21.
- Takenaka, L.A. Y Echigo, T. (1974). Changes in enzyme activity during the storage of honey. *Bolletín of the Faculty of Agriculture, Tamogawa University*, 14, 19-25.
- Terrab, A., Diez, M.J., Y Heredia, F.J. (2002). Characterization of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79, 373-379.
- Terrab, A., Diez, M.J., Heredia, F.J. (2003a). Palynological, physico-chemical and colour characterization of Moroccan honeys: I. River red gum (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) honey. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, 379-386.
- Terrab, A., Diez, M.J., Heredia, F.J. (2003b). Palynological, physico-chemical and colour characterization of Moroccan honeys: II. Orange (*Citrus* sp.) honey. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, 387-394.
- Terrab, A., González-Miret, L. Y Heredia, F.J. (2004). Colour characterisation of thyme and avocado honeys by diffuse reflectance spectrophotometry and spectroradiometry. *Eur. Food Res. Technol.* 218, 488-492.
- Terrab, A., Recamales, A. f., Hernanz, D., Y Heredia, F.J. (2004). Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral content. *Food Chemistry*, 88, 537-542.

Thrasyvoulou, A., y Manikis, J. (1995). Some physicochemical and microscopic characteristics of Greek unifloral honeys. *Apidologie*, 26, 441-452.

Tosi, E.A., Ré, E., Lucero, H., Bulacio, L., (2004). Efect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 37 (6), 669-678.

Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H., Ré, E. (2008). Honey diastase activity modified by heating. *Food Chemistry* 106: 883-887.

Tuck, K. Y Hayball P. (2002). Major phenolic compounds in olive oil. *J Nutr Biochem.* 13:636-644.

Tzu Chang Chou; An Bang Wu; Chau Yang Chen (1994). Sugar content of honey from wild and kept honeybees. *Journal of Food and Drug- Analysis*; 2 (2) 97-102.

Van Den Berg, C. (1986). Water activity. En: *Concentration and Drying of Foods*. Ed D. MacCarthy, Elsevier Applied Science, London, 11-36.

Visquert, M., Escriche, I., Andrés, A., Fito, P. (2004). Cambios en parámetros de calidad de la miel ocasionados por los procesos térmicos. *Alimentación Equipos y Tecnología* 23, (188):87-92.

Vorwohl, G. (1964a). Die messung der elektrischen leitfähigkeit des honigs und die verwendung der mebwerte zur sortendiagnose und zum nachweis von verfälschungen mit zuckerfütterungs-honigs. *Bienenforsch*, 7, 37-47.

Vorwohl, G. (1964b). Die beziehungen zwischen der elektrischen leitfähigkeit der honige und ihrer trachtmäßigen herkunft. *Ann Abeille*, 7 (4), 301-308.

Wahdan Han. (1998). Causes of the antimicrobial activity of honey. *Infection*. 26:26.

Wedmore, E. B. (1955). The accurate determination of the water content of honey. I. Introcutions and results. *Bee world*, 36 (11), 197-206.

Weston, R.J., Mitchell, K.R., Allen, K.L., (1999). Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honey. *Food Chemistry*. 64, 295-301.

White, J.W. Jr., Riethof, M. L., Subers, M. H., y Kushnir, I. (1962). Composition of American honeys. *Techn. Bull. U.S. Dep. Agric.*, 1261.I.

White, J.W., Kushnir, I. Y Subers, M.H. (1964). Effect of storage and processing temperatures on honey quality. *Food Technology*, 18 (4), 555.

White, J.W., Jr. (1969). Moisture in honey. Review of chemical and physical methods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem*, 52 (4), 729-37.

White, J.W. Jr. (1975). *The hive and the honey bee*. Dadant & Sons, Inc., Hamilton, Illinois, 491 - 530.

White, J.W. Jr. (1978). Honey. *Advances in food research*, 24, 287-375. Ed. Board. Academic Press. New York, San Francisco, London.

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

White, J.W. Jr. Y Siciliano, J. (1980). *Journal of the AOAC*, 63 (1), 7-10. Citado en Pérez et al., 1990b.

White, J.W., Jr. (1987). Wiley Award adress wiley led the way: a century of federal honey research (review). *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 70 (2), 1819.

White, J.W. Jr. (1992). Quality evaluation of honey. Role of HMF and diastase assays. *American Bee Journal*, 132 (11/12), 737-742, 792-794.

Willix, D.J., Molan, P.C., Harfoot, C.G. (1992). A comparision of the sensitivity of wound-infecting species of bacteria to the antibacterial activity of manuka honey and other honey. *J. Appl. Bacteriol.* 73 (5), 388-394.

Yanniotis, S., Skaltsi, S., Karaburnioti, S. (2006). Effect of moisture content on the viscosity of honey at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 72, 372-377.

Zamora, M.C., Cherife, J., Roldán, D. (2006). On the nature of the relationship between water activity and % moisture in honey. *Food Control*, 17, 642-647.

Zamora, M.C., Cherife, J. (2005). Determination of water activity change due to crystallization in honeys from Argentina. *Food Control* in press.





