

Evaluaciones químico-físicas y de actividad antioxidante de dos mieles procedentes de la provincia El Oro

Ingrid Márquez Hernández¹; Mercedes Campo Fernández²; Osmany Cuesta-Rubio³;
Nubia Matute Castro⁴; Dayana Ordoñez Caiminagua⁵; Angie Valarezo Rodríguez⁶

Resumen

El presente trabajo tiene como finalidad evaluar propiedades químico-físicas y antioxidantes de mieles, de dos entornos geográficos diferentes, a través de métodos recomendados en la literatura, para la determinación de la calidad de las mismas y de semejanzas y diferencias entre ellas. Se realizaron ensayos de: color, porcentaje de humedad, índice de refracción, densidad relativa, grados Brix, porcentaje de azúcar invertido, pH, conductividad y cenizas. Las determinaciones permitieron evaluar que los valores se encontraban dentro de los rangos establecidos según normativas reportadas para mieles, con discretas diferencias entre las muestras. Se cuantificaron minerales, compuestos fenólicos y flavonoides. Los principales minerales detectados fueron: potasio, fósforo, calcio y magnesio. Todas las determinaciones se desarrollaron a partir de métodos recomendados en la literatura. Se evaluó la capacidad antioxidante mediante los métodos de DPPH-TEAC y FRAP-TEAC y se estableció la cinética de secuestro de DPPH. Se determinó que la muestra proveniente de Zaruma mostró mayor contenido de compuestos fenólicos y de flavonoides y mayor capacidad antioxidante en ambos análisis. Se clasificaron ambas muestras como antioxidantes de cinética rápida. Los estudios realizados permitieron establecer diferencias y semejanzas en algunos de los parámetros evaluados y reconocer la calidad de ambas muestras objeto de estudio.

Palabras claves: miel, *Apis mellifera*, composición química, compuestos fenólicos, DPPH, FRAP.

Evaluations of the chemical-physical and antioxidant activity of two honeys samples from the El Oro province

Abstract

The purpose of this work is to evaluate physical-chemical, chemical and biological properties of honeys, from two different geographical environments, through methods recommended in the literature, to determine their quality, and similarities and differences between them. The following were determined: color, humidity percentage, refractive index, relative density, Brix degrees, inverted sugar percentage, pH, conductivity and ashes. The results allowed to determinate that the values were within the ranges established according to the regulations reported for honey, with discrete differences between the samples. Minerals, phenolic compounds and flavonoids were quantified. The main minerals detected were: potassium, phosphorus, calcium and magnesium. All the determinations were developed from methods recommended in the literature. The antioxidant capacity was evaluated using DPPH-TEAC and FRAP-TEAC methods and the DPPH sequestration kinetics were established. It was determined that the sample from Zaruma showed a higher content of phenolic compounds and flavonoids and a higher antioxidant capacity in both studies. Both samples were classified as fast kinetic antioxidants. The studies carried out made it possible to establish differences and similarities in some of the parameters studied and to recognize the quality of both samples under study.

Keywords: honey, *Apis mellifera*, chemical composition, phenolic compounds, DPPH, FRAP.

Recibido: 10 de marzo de 2024
Aceptado: 11 de noviembre de 2024

¹ imarquez@utmachala.edu.ec; Universidad Técnica de Machala

² mcampo@utmachala.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0002-9835-6886>; Universidad Técnica de Machala

³ ocuesta@utmachala.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0002-9490-8735>; Universidad Técnica de Machala

⁴ nmtute@utmachala.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0002-6707-4341>; Universidad Técnica de Machala

⁵ daykarolina94@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0002-2472-4356>; Hospital General Marco Vinicio Iza

⁶ amvr241095@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0005-9442-5839>; Universidad Técnica de Machala

Autor de correspondencia

I. INTRODUCCIÓN

La miel es una sustancia viscosa, gelatinosa, formada a partir del néctar de flores, secreciones de plantas silvestres vivas y excreciones de animales colectores de néctar. Estas son recolectadas, transformadas, deshidratadas y almacenadas por las abejas en colmenas, para la obtención y posterior maduración de la miel (García-Chaviano et al., 2022; Barrera y Llanos, 2023). Existen numerosas variedades de mieles, que se caracterizan y se diferencian por una serie de rasgos, entre los que se encuentran: olor, sabor, pH, humedad. Estos varían y dependen del hábitat de las abejas, de las diferentes fuentes de plantas, flores, así como la zona (suelos), clima y entornos geográficos donde la abeja visita y recolecta el néctar necesario para su elaboración. También los métodos de recolección que utilizan los apicultores influyen en las características de las mieles (Martell-Tamanis et al., 2019). De forma general en su composición se encuentran carbohidratos (fundamentalmente fructosa y glucosa), proteínas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgánicos, compuestos de naturaleza fenólica, minerales, vitaminas y otras sustancias (Aljohar et al., 2018; Maza, 2021; García-Chaviano et al., 2022). Esta composición también es dependiente de la localización del apiario. La adulteración de las mieles ha sido un grave problema al cual se ha enfrentado el hombre históricamente y hasta la actualidad. Numerosas organizaciones mundiales y de forma particular la mayoría de los países, cuentan con reglamentaciones, para declarar como aptas para la comercialización y el consumo a las mieles. Estas consisten en evaluar un conjunto de parámetros que demuestren la autenticidad de las mismas y que conlleven a determinaciones físico-químicas y químicas. También permiten evaluar la edad y estabilidad de las mismas (Al-ghamdi, 2019). La miel es conocida por sus propiedades nutricionales, y posee, entre otras, actividad antiinflamatoria, antibacteriana, cicatrizante, antioxidante y analgésica, debido a su composición química (Cocinschi, 2019; Granda, 2022). Esta varía dependiendo de la fuente del néctar, el clima, la ubicación geográfica de las colmenas y la especie de la abeja. Ecuador es un país que se dedica mayormente a la producción agrícola y a

la acuicultura. Sin embargo, la exportación de mieles de abeja, se ha impuesto, al ser un producto con mucha demanda en el mercado europeo y estadounidense (Vivanco y Villavicencio, 2020). La producción artesanal de mieles en el país está bastante generalizada, sin embargo, en ocasiones, estos productores la comercializan sin tener un control adecuado de las mismas. Resulta necesario estudiar muestras de mieles que son producidas en estas circunstancias para avalar la calidad de las mismas o realizar un acompañamiento a estos productores en aras de que puedan cumplir con los parámetros de calidad establecidos. Por todo lo antes expuesto, se traza el siguiente objetivo: Evaluar propiedades químico-físicas y biológicas de muestras de miel de abejas de la especie *Apis mellifera africanizada*, de dos entornos geográficos, a través de métodos recomendados en la literatura especializada, para la determinación de la calidad de las mismas y de semejanzas y diferencias entre ellas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de mieles, elaboradas por abejas de la especie africanizada, se colectaron en la provincia de EL Oro, Ecuador. La muestra 1 se obtuvo del cantón Zaruma, parroquia Güizhagüiña, en el mes de julio del año 2018 y la muestra 2 se adquirió del cantón Santa Rosa, parroquia La Avanzada, en febrero del 2019. Ambas fueron obtenidas previo proceso de des-operculación de los panales. En la muestra 1, el método de extracción fue por escurrida mientras que la muestra 2 fue mediante centrifugación y posterior filtración a través de un colador artesanal. Las mieles fueron almacenadas en recipientes correctamente cerrados y a temperaturas de alrededor de 24 °C.

La determinación del color se desarrolló mediante los procedimientos descritos por Huidobro et al., 1983 y Huidobro y Simal, 2014. Se midió la absorbancia (abs) a 650 nm en un espectrofotómetro (thermo scientific evolution 201/220 uv-visible spectrophotometers). La conversión a la escala de Pfund se realizó a partir de la aplicación de la siguiente fórmula (Delmoro et al, 2010).

$$\text{mmPfund} = -38,70 + 371,39 \cdot \text{X abs } 650 \text{ nm} \quad (1)$$

El contenido de humedad (NTE INEN 1632), el índice de refracción, los grados Brix y el porcentaje de azúcar invertido (Navarro-Martínez et al., 2021) se determinaron, con una gota de miel, directamente con un refractómetro de marca (antón paar abbetmat 200). La determinación de la densidad (NTE INEN 1632), se realizó con la ayuda de un picnómetro. Las pesadas se realizaron en una balanza (rice lake ta-220). Los cálculos se desarrollaron a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Donde: } \text{Densidad} = \frac{M3 - M1}{M2 - M1} \quad (2)$$

M1= masa picnómetro vacío

M2= masa picnómetro + agua destilada

M3= masa picnómetro + muestra

Para las mediciones del pH y de la conductividad eléctrica (NTE INEN 1572) se preparó una disolución a partir de 10g de miel y 75 ml de agua destilada. Se utilizó un potenciómetro multiparamétrico (BANTE 900P) y se realizó la lectura a una temperatura de 24,6 °C.

Para la determinación de cenizas totales (NTE INEN 1636), se utilizó estufa memmert, la balanza analítica descrita, plancha de calentamiento umco um0537 y mufla magrico 007.

El porcentaje de cenizas totales se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{peso en g (crisol + ceniza)} - \text{peso en g (crisol vacío)}}{\text{peso de la muestra}} * 100 \quad (3)$$

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Los minerales se cuantificaron según las normas de la AOAC (Asociación oficial de químicos analistas, siglas en inglés) aplicadas por el Laboratorio NemaLab S.A. Utilizando la técnica de digestión por vía húmeda con mezcla de ácido nítrico y perclórico para la determinación de los minerales K, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, y Na. En el caso del fósforo la determinación se realizó, mediante la técnica de espectrofotometría

UV y para la determinación del nitrógeno total por microkjeldahl utilizando también espectrofotometría UV.

La cuantificación de compuestos fenólicos se desarrolló según Singleton et al., 1999, con algunas modificaciones (Campo et al., 2019). Se prepararon disoluciones al 20%, utilizando 2 g de miel de cada muestra. La curva de calibración se realizó a partir del ácido gálico y la ecuación, resultante del análisis de regresión (R=0,99668) correspondiente, es la siguiente:

$$\text{Absorbancia} = 0,0200528 + 0,92912 * \text{concentración (mg/mL)} \quad (4)$$

La lectura de la absorbancia fue medida a 765 nm en el espectrofotómetro descrito con anterioridad. Los ensayos se trabajaron por triplicado.

La cuantificación de flavonoides en ambas muestras de mieles se realizó por el método colorimétrico, utilizando cloruro de aluminio y quercetina como referencia (Balcázar-Cruz et al.,

2019). Se emplearon concentraciones de mieles al 5% en agua destilada. Las lecturas de absorbancia se realizaron en el espectrofotómetro mencionado con anterioridad, a 415 nm. El análisis de regresión lineal realizado con la curva patrón (R=0,999231), mostró la siguiente ecuación:

$$\text{Absorbancia} = -0,0130879 + 19,5781 * \text{concentración (mg/mL)} \quad (5)$$

El ensayo DPPH-TEAC (2,2-Difenil picrylhidrazil-capacidad antioxidante equivalente a trolox, siglas en inglés) se realizó según el método de Barrón-Yáñez et al., 2011, con algunas modificaciones (Romanet et al., 2019; Sethi et al., 2020). Las disoluciones a utilizar en este ensayo se prepararon a partir de 5 g de miel (para cada muestra de estudio), que se diluyeron con agua

destilada en un balón volumétrico de 10 mL, hasta aforar. Se trabajaron por triplicado cada una de las muestras de miel. La lectura en el espectrofotómetro se realizó a una longitud de onda de 517 nm. La curva de calibración se obtuvo para el trolox y los resultados de la regresión lineal (R2=0,991751) permitieron trabajar con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = 3,02463 + 552,693 * \text{concentración (mg/mL)} \quad (6)$$

El ensayo FRAP-TEAC (capacidad de reducción del ion férrico del plasma-capacidad antioxidante equivalente a trolox, siglas en inglés) sobre ambas muestras de miel se realizó basado en lo recomendado por Benzie y Strain, 1996. La lectura en el espectrofotómetro UV se realizó a una longitud de onda de 593 nm. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Para la obtención de la curva de calibración se utilizaron concentraciones desde 0,025 a 0,175 mg/mL de trolox en metanol. Con los valores de absorbancia obtenidos y utilizando como base la curva de calibración desarrollada, se obtuvieron las concentraciones equivalentes a trolox para cada muestra. La ecuación obtenida ($R^2=0,998016$) es la siguiente:

$$\text{Absorbancia} = -0,00290476 + 7,00476 * \text{concentración (mg/mL)} \quad (7)$$

El estudio cinético se desarrolló según Barrón-Yáñez et al., 2011, con algunas modificaciones (Dzukan et al., 2018). La curva de calibración se desarrolló con DPPH utilizando concentraciones de 0.1; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 y 1 mM en metanol. Las absorbancias se midieron en el espectrofotómetro a 517 nm de longitud de onda. Se prepararon las muestras por triplicado y se utilizaron tres concentraciones diferentes de miel: 50 %, 70 % y 90 %. Para la preparación de las disoluciones se pesaron 2,5 g, 3,5 g y 5 g de miel respectivamente

y se aforaron en volumétricos de 5 ml con agua destilada. Las lecturas se realizaron desde tiempo cero (DPPH_{t=0}) y de ahí, consecutivamente, cada 30 segundos hasta completar 1 hora. Con las absorbancias obtenidas, se calcula el DPPH remanente (DPPH rem), a partir del uso de la curva de calibración elaborada con anterioridad. Se utilizó como blanco el metanol.

El porcentaje de DPPH rem se calculó como sigue:

$$\% \text{ DPPH rem} = 100 \times \frac{\text{DPPH rem}}{\text{DPPH}_{t=0}} \quad (8)$$

El tratamiento estadístico de los datos se realizó con la ayuda del programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 22. Se estableció la media y desviación estándar y se aplicó un análisis de comparación de medias a partir de la utilización del Test de Student (prueba T) para muestras independientes.

III. RESULTADOS

La determinación de los parámetros químico-físicos se desarrolló a partir de la evaluación de: color, porcentaje de humedad, índice de refracción, densidad, grados Brix, porcentaje de azúcar invertido, pH, conductividad y cenizas. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados correspondientes a las determinaciones de los parámetros químico- físicos ensayados.

Parámetros	Media ± Desviación Estándar	
	M1 (Zaruma)	M2 (Santa Rosa)
Color	46,5760 mmPfund a ± 0,9980	52,2315 mmPfund a ± 0,9411
Humedad	20,0433% a ± 0,3164	19,2200% b ± 0,2357
Índice de refracción	5.563.562	-12
Densidad relativa	1,4846 a ± 0,0006	1,4870 a ± 0,0017
° Brix	78,1067 a ± 0,1941	78,8967 a ± 0,4389
Azúcar Invertida	80,2300 a ± 0,3235	81,1233 b ± 0,2684
pH	3,9693 a ± 0,0023	4,0317 b ± 0,0064
Conductividad Eléctrica	0,7975 mS.cm-1 a ± 0,0023	0,7080 mS.cm-1 b ± 0,0040
Cenizas Totales	0,2140 a ± 0,0459	0,1893 a ± 0,0040

Nota: Los parámetros que presentan la misma letra por cada fila, no presentan diferencias estadísticamente significativas.

La cuantificación de minerales arrojó los siguientes resultados (tabla 2)

Tabla 2. Minerales identificados en muestras de miel de Zaruma y Santa Rosa.

Minerales	(mg mineral/kg de miel)	
	M1 (Zaruma)	M2 (Santa Rosa)
Fósforo	343,53	245,32
Potasio	925,39	489,88
Calcio	308,21	175,75
Magnesio	169,19	105,90
Zinc	1,36	0,63
Cobre	0	0
Hierro	4,38	2,52
Manganeso	2,32	1,40
Sodio	65,70	102,24

Los miligramos obtenidos equivalentes a ácido gálico (EAG) y a quercetina (EQ), por 100 gramos de muestra, se constatan en la tabla 3.

Tabla 3. Miligramos obtenidos equivalentes a ácido gálico (EAG) y a quercetina (EQ), por 100 gramos de muestra

Muestra	mg EAG/100 g de muestra Media ± Desv. Estándar	mg EQ/100 g de muestra Media ± Desv. Estándar
Zaruma	107,97a ± 8,55	2,54 a ± 0,05
Santa Rosa	51,83 b ± 3,41	1,74 a ± 0,16

Nota: Los parámetros que presentan la misma letra por columna, no presentan diferencias estadísticamente significativas. EAG: equivalente a ácido gálico. EQ: equivalente a quercetina

Los resultados obtenidos en la determinación de la capacidad antioxidante de las muestras se describen en la tabla 4.

Tabla 3. Resultados de la capacidad antioxidante de ambas muestras, a partir de la determinación de la reducción del ion férrico a ferroso, y del secuestro del radical DPPH; ambos equivalentes a trolox

Muestra	FRAP-TEAC Promedio TEAC (mg)/100 g de miel ± DS	DPPH-TEAC Promedio TEAC (mg)/100 g de miel ± DS
Zaruma	2,87 ± 0,13b	1,27 ± 0,50a
Santa Rosa	2,42 ± 0,18a	1,05 ± 0,11a

Nota: FRAP-TEAC: Ferric reducing ability of plasma (siglas en inglés)-capacidad antioxidante equivalente a trolox. DPPH-TEAC: 2,2-Difenil picrylhidrazil-capacidad antioxidante equivalente a trolox. Letras iguales por columna, no existen diferencias estadísticamente significativas.

El estudio para evaluar la cinética del secuestro del radical DPPH en ambas muestras, mostró los resultados que se muestran en la Figura 1.

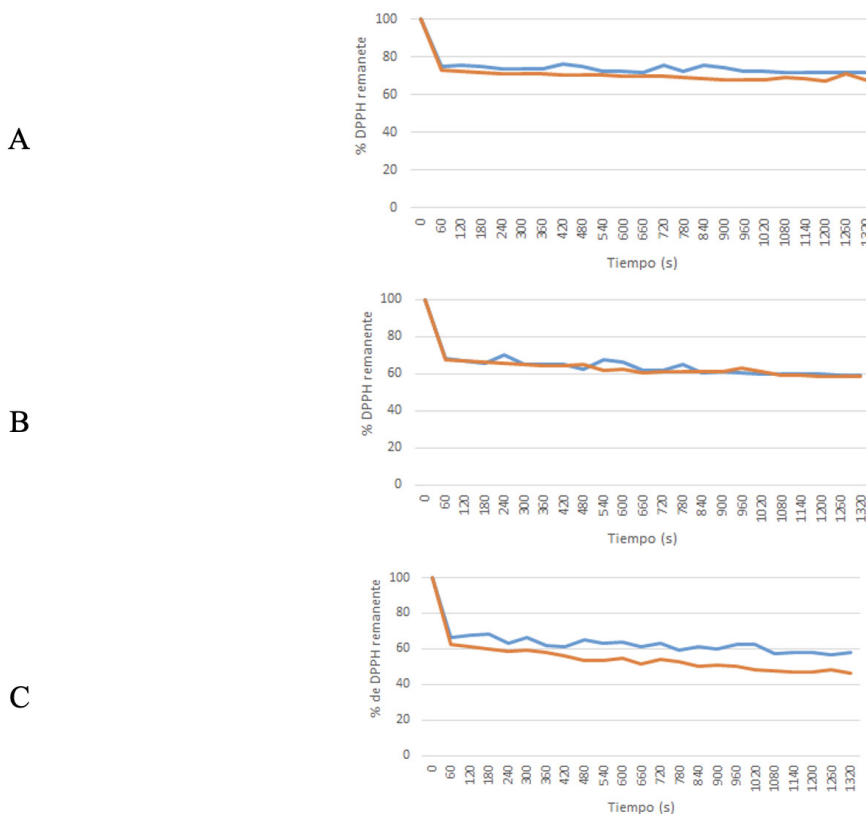


Figura 1. Comportamiento cinético, a partir de la evaluación del porcentaje del DPPH remanente en el tiempo, de ambas muestras de miel. A: 50% de miel. B: 70% de miel. C: 90% de miel. El color azul corresponde a la muestra de Zaruma. El color rojo representa la muestra de Santa Rosa.

IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La miel procedente de Santa Rosa presenta mayor valor de milímetros (mm) de P_{fund} que la miel procedente de Zaruma. Estos mm, equivalen a clasificar la miel M1 como ámbar extra clara y la M2 como ámbar claro. La diferencia observada para este parámetro resulta lógica dada la condición multifactorial que presupone el color de las mieles. Las diferencias podrían estar dadas por diferencias en cuanto a origen floral y por tanto contenido de flavonoides, contenido de carotenoides, xantofilas y clorofilas.; contenido de minerales, lo cual está relacionado con el tipo de suelo; contenido de sustancias de naturaleza proteica, incluidos los granos de polen; tiempo desde la recolección (edad); conservación y almacenamiento; tipo de madera utilizada para las cajas donde se disponen los panales. Este parámetro no se encuentra normado, solo se utiliza para clasificar las mieles y por razones estrictamente comerciales, aunque algunos autores recomiendan incluirlo (Coronado

et al., 2019; García-Chaviano et al., 2022).

Normas internacionales establecen que el contenido de humedad de las mieles debe encontrarse entre el 13 y 25,4% (NOM-004-SAG/GAN,2018; CXS 12,1981; NTC-1273). Ambas muestras se encuentran dentro de los límites establecidos, aunque la miel originaria de Santa Rosa presenta un valor de humedad menor que la procedente de Zaruma. Para el caso particular de las normas INEN (NTE INEN 1632), ambas mieles cumplen con los valores normados para este parámetro, sin embargo, se clasifican de manera diferente. La miel procedente de Santa Rosa sería una miel tipo I pues su % de humedad es menor al 20%. Por otra parte, la miel procedente de Zaruma sería una miel tipo II pues su % de humedad se encuentra entre 20 y 23%, aunque en el límite inferior. El parámetro analizado cumple con lo normado, aunque las diferencias obtenidas para ambas muestras resultaron significativas desde el punto de vista estadístico. Esto podría sustentarse

por varias causas: la humedad ambiental es elevada para ambas regiones (entre 70 y 90% para la región de la costa ecuatoriana), aunque no es exactamente la misma; la manipulación durante el proceso de extracción por parte de los apicultores (grado de operculación del panal, grado de madurez de las mieles, método de extracción y procesamiento) fue correcta, pero diferente; el sellado de los envases de las muestras fue adecuado, pero tampoco fue igual para ambos. Se debe aclarar que, aunque ambas mieles cumplen con lo normado por el INEN, algunos países no aceptan mieles que posean una humedad superior al 20%, por lo que la miel procedente de Zaruma sería rechazada. La cantidad de agua que presente una muestra de miel tributa directamente a la posibilidad de contaminación microbiológica y la consecuente fermentación de la misma, contribuyendo además a la variación de otros parámetros de calidad como la viscosidad, la densidad y el índice de refracción. También esto puede contribuir a un daño económico importante para el apicultor (Barrera y Llanos, 2023).

Respecto a los valores obtenidos para el índice de refracción, se puede observar en primer lugar, que no existen diferencias estadísticamente significativas para ambas muestras de miel. En ambos casos los valores se encuentran dentro de los esperados dados los porcentajes de humedad que mostraron (Simal et al., 2014). Este parámetro no constituye un requisito de calidad de acuerdo a las normas INEN, solo es un parámetro de caracterización de las mismas.

Autores (Aljohar et al., 2018; Barrera y Llanos, 2023) y normas (CXS 12,1981; NTC-1273) plantean que la densidad de las mieles debe presentar valores entre 13900 y 14600 Kg/m³. En el caso particular de las normas INEN (NTE INEN 1632), tienen como requisito valores de densidad mínimo de 13900 para las mieles clase I y de 13700 para la clase II. Las muestras analizadas cumplen con estos requerimientos.

Respecto a los grados Brix, la literatura plantea que estos deben encontrarse entre 75 y 92%. Se plantea que valores menores al rango indican que la miel presenta menos viscosidad y por tanto mayor contenido de agua. Si, por el contrario, los valores exceden el rango, es indicativo de la adición de otras sustancias. En cualquiera de los dos

casos, es indicativo de adulteración. Valores más elevados de grados Brix indican que la miel es más propensa a la cristalización. Como se observa, las muestras trabajadas cumplen con lo reportado en la literatura y se encuentran más cercanos al límite inferior lo cual sugiere que no sean propensas a la cristalización (Rojas, 2020; Barrera y Llanos, 2023).

Algunas normas (CXS 12,1981; NOM-004-SAG/GAN,2018) establecen que el porcentaje de azúcar invertido en las mieles no debe ser menor al 63%. Para ambas muestras, los resultados que se obtuvieron cumplen con este requerimiento. Muchos autores plantean que el porcentaje total de carbohidratos en las mieles se encuentra alrededor del 80%. De este, aproximadamente el 38% corresponde a fructosa, el 31% a glucosa, alrededor del 1% a sacarosa y el resto a otros minoritarios. El porcentaje de sacarosa no debe ser mayor al 8% en las mieles. Uno de los problemas que históricamente se ha confrontado en la comercialización de las mieles es la autenticidad de las mismas. Las adulteraciones generalmente se producen por la adición de jarabes, jaleas, miel de caña o una sobrealimentación de las abejas, lo que produce un valor excesivo de sacarosa. Se ha recomendado entonces, no solo determinar el porcentaje de azúcar invertido sino además los porcentajes de sacarosa, de glucosa, de fructosa y la relación fructosa-glucosa (Rojas, 2020; Barrera y Llanos, 2023).

En cuanto a los valores de pH, en este caso sí se observaron diferencias estadísticamente significativas. Se observa que la miel proveniente de Zaruma mostró menores valores que la procedente de Santa Rosa, aunque ambos cumplen con los rangos habituales esperados. Según la literatura, los principales responsables de los bajos valores de pH que muestran las mieles son los ácidos orgánicos. Los más comunes resultan el ácido glucónico, cítrico, málico, succínico, fórmico, acético, butírico, láctico, oxálico y tartárico. El más abundante se plantea es el ácido glucónico, derivado de la acción de la glucosa oxidasa sobre la glucosa, por lo que se toma este como el ácido predominante en la miel. Sin dudas la diferencia de los valores de pH entre estas muestras responde a diferencias en la composición química de sustancias ácidas, lo

cual a su vez responde a diferencias en la fuente botánica desde donde se obtuvieron ambas mieles. Se debe comprobar la presencia de estos ácidos en cada una de las muestras objeto de estudio, para justificar la diferencia entre ellas (Aljohar et al., 2018; Rojas, 2020; Barrera y Llanos, 2023).

Los valores de conductividad eléctrica, por su parte, mostraron también diferencias significativas entre ambas mieles, tomando el mayor valor la muestra proveniente de Zaruma. En principio podría valorarse la existencia, en esta muestra, de mayor cantidad de aquellos elementos responsables de este parámetro (minerales, ácidos orgánicos e inorgánicos, proteínas, azúcares complejos y polioles). Esto también permite sugerir diferencias que podrían estar desde el origen botánico hasta de los suelos donde estas se encuentran. Realizando una comparación con los valores de pH obtenidos, se puede comprobar que también se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas y que resultó ser la miel zarumeña la de menor valor de pH y presumiblemente la que podría tener mayor cantidad o diversidad de compuestos ácidos, condicionando, a partir de estos metabolitos, a un mayor valor de conductividad. A pesar de estas diferencias, ambas mieles muestran valores de conductividad que cumplen con los requisitos establecidos y permiten clasificarlas dentro de mieles de origen floral (valores de conductividad menores a $0,8 \text{ mS.cm}^{-1}$) (Sanz y Sanz, 1994; Rojas, 2020; Barrera y Llanos, 2023).

La determinación de cenizas se encuentra también en correspondencia con lo planteado anteriormente. Como se describe en la tabla 1 la muestra zarumeña mostró mayores valores de cenizas que la proveniente de Santa Rosa, aunque no se evidenciaron diferencias significativas en este caso. Estos valores permiten sugerir mayor cantidad de contenido de compuestos de naturaleza inorgánica (minerales) en la muestra proveniente de Zaruma. No obstante, los resultados obtenidos para ambas muestras, se encuentran dentro de los rangos establecidos para las normativas vigentes (1 % máximo). Este parámetro se encuentra directamente relacionado con el tipo de suelo donde crecen las especies vegetales que visita la abeja. A pesar de esto, y de las diferencias en cuanto a los tipos de minerales que puedan presentar las mieles,

los valores de cenizas no sobrepasan, en la mayoría de las mieles el 0,2%. Los resultados obtenidos para las cenizas, apoyan los determinados para conductividad. Como ya se mencionó, muchos autores relacionan los valores de conductividad con el contenido de minerales, aunque no se descarta la influencia que podrían tener los otros factores que influyen este parámetro. Resumiendo, los parámetros químico-físicos realizados permiten afirmar que ambas muestras de mieles cumplen con lo establecido en la mayoría de las normas respecto al % de humedad, de azúcar invertido, el índice de refracción, la densidad, conductividad eléctrica, el pH y las cenizas (Sanz y Sanz, 1994; Rojas, 2020; Barrera y Llanos, 2023).

Como se observa en la tabla 2, a excepción del sodio, la muestra proveniente de Zaruma presenta mayor contenido en cada uno de los minerales evaluados, con respecto a la muestra obtenida del cantón Santa Rosa. Esto se encuentra en total concordancia con los parámetros cenizas y conductividad, anteriormente comentados. El alto contenido de sodio en la muestra proveniente de Santa Rosa denota una elevada salinidad en los suelos donde crece la vegetación que visita la abeja. Este aspecto se ha señalado anteriormente por otros autores (Moniruzzaman et al., 2014). Se recomienda realizar, en estudios posteriores, un análisis para comprobar la salinidad de los suelos. Se ha planteado que el contenido de minerales constituye un parámetro discriminatorio y de caracterización para cada miel, dependiendo de la especie, el tipo de suelo y hasta el nivel de polución que pueda existir en cada lugar. Las diferencias observadas para ambas muestras apoyan lo planteado. La literatura plantea que, dentro de los minerales, el más abundante resulta el potasio y que la cantidad de este se encuentra entre el 45 y el 85% del total de minerales. En ambas mieles, el mineral más abundante fue el potasio, constituyendo alrededor del 50% del total de los minerales para la muestra zarumeña y el 43,6% para la proveniente de Santa Rosa. Otros autores plantean que el contenido de potasio, en ocasiones, resulta 10 veces superior a los contenidos de sodio y magnesio (Szefer & Grembecka, 2013). En la muestra procedente de Zaruma, el contenido de potasio fue alrededor de 10 veces más abundante

respecto al sodio mientras que con respecto al magnesio fue 5 veces mayor. En el caso de la muestra de Santa Rosa, esta proporción fue de 5 respecto a ambos minerales. El resto de los minerales estudiados, según su abundancia, se ubicaron el fósforo, calcio y magnesio. Los menos abundantes resultaron el manganeso, el hierro y el cobre, siendo este último no detectado en las muestras objeto de estudio. Trabajos realizados con muestras de mieles multiflorales provenientes de diversos países, muestran una elevada diversidad en cuanto a la composición de minerales entre ellos y con nuestros resultados. Por otro lado, en las mieles que se estudian, se presentan mayores contenidos de calcio, magnesio y sodio respecto a todas las mieles contrastadas y menores contenidos respecto al cobre. Esto demuestra lo anteriormente comentado acerca de la tendencia a la tipificación de las mieles, tomando como patrón el contenido de minerales y la influencia multifactorial (la presencia de estos se encuentra condicionada por la composición del suelo, la cual afecta a la absorción de los mismos por las plantas y de ahí su paso a las mieles) que tiene este parámetro y que lo hace específico para cada muestra o región. Los minerales que comúnmente presentan las mieles tienen funciones reguladoras en el organismo y son de gran valor nutricional. También se plantea que, algunos de ellos potencian la actividad bactericida de las mieles. Los minerales hierro, calcio, cobre, magnesio, manganeso y zinc resultan los de mayor biodisponibilidad (Szefer y Grembecka, 2013; Moniruzzaman et al., 2014; Kedzierska et al., 2018; Warui, 2019).

La muestra zarumeña presentó mayor contenido de compuestos fenólicos (expresados como ácido gálico), a partir del método de Folin-Ciocalteu, que la muestra proveniente de Santa Rosa. Se conoce que el contenido y diversidad de compuestos fenólicos que poseen las mieles está directamente relacionado con el origen botánico de las mismas, y que existe gran variabilidad en cuanto a la concentración de los mismos, ya sean por las diferencias en la localización geográfica o por variabilidad de la fuente vegetal. La diferencia observada entre ambas muestras resulta lógica, si se toma en consideración que provienen de zonas geográficas diferentes (altitud, localización,

temperatura, tipo de vegetación presente en el lugar e incluso posibilidad de, siendo especies comunes, que su composición varía por estas causas). Numerosos autores consideran a los compuestos fenólicos como los componentes de mayor interés farmacológico dentro de las mieles. Se les atribuyen la responsabilidad de las actividades antioxidantes y antimicrobianas de las mismas. La muestra de Zaruma resulta entonces, desde el punto de vista de la cantidad de compuestos fenólicos, la más interesante. La variabilidad en las concentraciones de fenoles ha sido observada en mieles de varios países. Mieles provenientes de Túnez exhibieron valores (mg EAG/100 g) que oscilan entre 32,17 para mieles provenientes de eucalipto, 63 para provenientes de naranjos y 119,42 para provenientes de menta. En un estudio desarrollado en mieles monoflorales chilenas se mostraron valores que oscilaron entre 84,97 y 181. Otros autores que desarrollaron un estudio en mieles argentinas reportaron valores que oscilan desde 40,30 y 193,03, aunque plantean que las mieles provenientes de eucalipto presentaron valores por encima de 142,7, de tréboles menores a 100,4 y de alfalfa de alrededor de 112. En ese mismo país reportaron valores entre 39,5 y 61,6. En estudios desarrollados con 70 mieles colombianas los valores se comportaron entre 21,3 y 115,1, sobre mieles peruanas mostraron rangos entre 53,39 y 88,77, bolivianas entre 115,04 y 190, checas 47,4-265,49 y de Burkina Faso entre 32,59 y 114,75. Respecto a estudios desarrollados en Ecuador, se revisaron trabajos que reportan contenidos de compuestos fenólicos en mieles provenientes de Chimborazo y de la red comercial de la provincia Pichincha, los cuales exhibieron valores de alrededor de 141 y entre 60,95-131,75 respectivamente. Para el caso de mieles uniflorales, se trabajaron muestras provenientes de aguacate y eucalipto en la provincia de Pichincha y mieles de nabo en la provincia de Bolívar. Los resultados mostraron valores de alrededor de 68,23 para las mieles provenientes de aguacate; 47,71 para las obtenidas de eucalipto y de alrededor de 34,33 para las de nabo. Al comparar los valores de mg EAG/100 g que se obtuvieron en el ensayo, con los estudios antes citados, podemos observar que se encuentran dentro de los amplios rangos que

se reportan. En el caso de la muestra de Zaruma, los resultados son comparables, tomando en consideración los estudios desarrollados en Ecuador, a los obtenidos en la red comercial de Pichincha, inferiores a los devenidos de mieles del Chimborazo y muy superiores a los estudios desarrollados sobre mieles uniflorales. En el caso de la muestra 2, los valores son semejantes a los obtenidos para las mieles de eucalipto, superiores para las de nabo e inferiores para el resto de los estudios (Ferreira et al., 2009; Ciappini et al., 2013; Hernández, 2013; Montenegro et al., 2013; Luiza et al., 2014; Muñoz et al., 2014; Boussaid et al., 2018; Morroni et al., 2018).

Al integrar los resultados obtenidos hasta el momento, la recomendación realizada con anterioridad respecto a determinar el color de las mieles por otro método o variar la metodología empleada se ve apoyada. Como ya se comentó, el color de la miel se relaciona a factores como: contenido de minerales, edad de la muestra, contenido de compuestos fenólicos, pigmentos, madera con que están fabricados los paneles, almacenamiento de las mismas, entre otros. La literatura plantea que existe una relación entre el contenido de hierro y el color de las mieles. Las mieles claras presentan menos de 2,79 mg/kg de hierro, las ámbar más de 2,87 mg/kg y las oscuras más de 4,26 mg/kg. En nuestro caso la miel proveniente de Zaruma responde, tomando en consideración el contenido de hierro, a una miel oscura y no a ámbar extra clara (Delmoro et al., 2010). Por otra parte, esta muestra de miel es más antigua, los paneles se encuentran fabricados de una madera más oscura (canelo respecto al laurel con que están fabricados los de Santa Rosa), tiene mayor contenido de minerales y de fenoles por lo que debía estar clasificada como más oscura que la miel de Santa Rosa. Solo podría justificarse la clasificación tomando en cuenta el contenido de pigmentos dado que las condiciones de almacenamiento son las mismas. Se recomienda, por tanto, realizar un estudio para determinar el contenido de pigmentos en ambas muestras de miel.

Como se observa (tabla 3), a pesar de no existir diferencias estadísticamente significativas, la miel proveniente de Zaruma muestra mayor cantidad de

flavonoides, equivalentes a quercetina, que la miel de Santa Rosa. Por tanto, al consumir 100 g de miel, se están consumiendo cantidades de flavonoides equivalentes a quercetina, de 1,74 mg para la miel de Santa Rosa y 2,54 mg para la miel Zarumeña, lo cual resulta muy positivo desde el punto de vista fisiológico. La literatura muestra valores diversos de este parámetro. Se han reportado valores entre 18,5-32,88 mg EQ/100 g en mieles de Malasia y 3,28-3,95 mg EQ/100 g en mieles de alfalfa, trébol y eucalipto, respectivamente; entre 0,91 y 3,83 mg EQ/100 g en mieles peruanas y, entre 0,65 y 8,10 mg EQ/100 g en mieles turcas. En muestras de mieles de las zonas sureste, sur y suroeste de Brasil se reportaron valores entre 2,97 y 10,46 mg EQ/100 g, entre 0 y 2,60 mg EQ/100 g y entre 0 y 4,27 mg EQ/100 g respectivamente. Para mieles de Túnez se publican valores equivalentes a quercetina entre 9,58 mg y 22,5 mg en 100 g de miel (Ciappini et al., 2013; Muñoz-Jáuregui et al., 2014; Souza et al., 2018). Se puede comprobar que los valores obtenidos en este trabajo se corresponden con lo reportado para la mayoría de los estudios consultados.

Respecto a los valores de DPPH-TEAC, como se observa en la **Tabla 4**, estos resultaron inferiores a los obtenidos para FRAP-TEAC y además no se constataron diferencias estadísticamente significativas entre ambas muestras. Se demuestra que, al consumir 100 g de miel, se capta el radical DPPH tal y como lo hacen 1,05 mg y 1,27 mg de trolox, para las muestras 2 y 1 respectivamente. La miel de Zaruma mostró superioridad en cuanto a capacidad antioxidante, a través de este mecanismo. En la literatura consultada se reportan valores muy superiores a los detectados en este trabajo. Se han reportado valores entre 9,36 y 75,74 mg/100 gramos en mieles de trébol, eucalipto y alfalfa; 122,06 y 294,5 mg/100 gramos en mieles cubanas y entre 43,55 y 290 mg/100 gramos en mieles checas. Respecto a los resultados obtenidos para FRAP-TEAC, la muestra 1 presentó un valor ligeramente superior y estadísticamente significativo de mg equivalentes a trolox, que es capaz de actuar a través de este mecanismo, respecto a la muestra 2. Se demuestra que, al consumir 100 g de miel, se puede reducir el ion férrico a ferroso tal y como lo hacen 2,42 mg y 2,87 mg de trolox,

para las muestras 2 y 1 respectivamente. En la literatura se encuentran resultados muy diversos en cuanto a este parámetro. Numerosas muestras han presentado valores superiores a los obtenidos en este trabajo y otras, sin embargo, han mostrado valores similares e incluso inferiores. Se han reportado valores de TEAC entre 52 y 83 mg/ 100 g de miel en muestras de Malasia; entre 12,5 y 31,53 mg/ 100g en mieles monoflorales del centro y sur de Chile y desde 0 hasta alrededor de 30 mg /100g en mieles de diferentes regiones de ese mismo país. En mieles de Brasil se presentó un promedio de 30 mg/ 100 g de miel, entre 15, 335 y 172,870 mg/ 100 g de miel para mieles bolivianas y valores promedio de $0,0048 \times 10^{-4}$ mg/ 100 g de miel para mieles turcas (Ciappini et al., 2013; Muñoz-Jáuregui et al., 2014; Boussaid et al., 2018; Morroni et al., 2018; Souza et al., 2018). Los resultados obtenidos en las determinaciones de la actividad antioxidante, a partir de ambos mecanismos, evidenciaron que, a pesar de que las muestras trabajadas si tienen la capacidad de reducir el ion férrico a ferroso y captar el radical DPPH, su magnitud, referente a trolox y a otras muestras de miel es baja. Se puede además sugerir que, al parecer, las muestras desarrollan mejor la actividad antioxidante a partir de la reducción del ion férrico que por secuestro de radical DPPH. La causa de estas diferencias se encuentra precisamente en la composición química particular de las muestras objeto de estudio, que a su vez dependen de la localización geográfica y las especies vegetales que rodean las colmenas. Los compuestos de naturaleza fenólica, especialmente los flavonoides, son los presuntos responsables de la actividad antioxidante en las mieles y en la mayoría de los extractos vegetales. Estos metabolitos resultan minoritarios en mieles (generalmente alrededor de un 2 %) y en particular en estas muestras resultan bajos. No obstante, la miel 1, presenta una discreta superioridad en cuanto a la cantidad de flavonoides y por tanto es congruente con la mayor actividad antioxidante mostrada, para ambos mecanismos. Los estudios de cuantificación de flavonoides y fenoles desarrollados en este trabajo así lo demuestran.

Como se observa en la figura 1, a medida que aumentó la concentración de miel, disminuyó el porcentaje de DPPH remanente, por lo que

aumentó la capacidad secuestradora de este radical. También se comprueba, tal y como se comentó con anterioridad que la muestra proveniente de Zaruma presenta actividad secuestradora superior (muy discreta), respecto a la muestra de Santa Rosa. Esto se comprueba, fundamentalmente, para las concentraciones del 50% y del 90%. Sin embargo, para todas las concentraciones trabajadas y para ambas muestras, la velocidad a la cual se logró el máximo de inhibición no cambia (menos de 5 min. en todos los casos). Se podría sugerir que, en principio, la concentración de las mieles es directamente proporcional a la capacidad secuestradora pero no interfiere en el tiempo al cual se logra la máxima actividad posible. Al visualizar los gráficos de la **Figura 1**, se comprueba que las muestras ensayadas tienen un comportamiento muy similar al descrito para antioxidantes de cinética rápida, pues logran su máxima actividad secuestradora antes de los 5 min., manteniéndose esta sin cambio durante el tiempo restante (Brand-Williams et al., 1995).

V. CONCLUSIONES

La determinación de color en las mieles, a partir de la comparación de los mm de Pfund, permitió clasificar las mismas de acuerdo a este parámetro. Las muestras de mieles analizadas presentaron porcentajes de humedad, índices de refracción, densidades relativas, porcentaje de azúcares invertidos, pH, grados Brix, conductividad y porcentaje de cenizas que se encuentran dentro de los parámetros de calidad establecidos. Los estudios realizados permitieron establecer diferencias en cuanto al color, el pH, porcentaje de humedad y la conductividad, entre ambas muestras, no así en cuanto a los valores de índice de refracción, densidad relativa, grados Brix, porcentaje de azúcar invertido y porcentaje de cenizas. Los estudios de detección de minerales desarrollados demostraron que la muestra procedente de Zaruma presenta mayor cantidad de los mismos, a excepción del sodio, respecto a la muestra originaria de Santa Rosa. La determinación cuantitativa de fenoles y flavonoides mostró un mayor contenido de estos metabolitos en la muestra zarumeña, aunque éstos no resultaron estadísticamente significativos. Esta muestra presentó mejor actividad antioxidante,

tanto en su capacidad de secuestrar radicales libres como para reducir al ion férrico. Los estudios cinéticos desarrollados permitieron clasificar ambas muestras trabajadas como antioxidantes de cinética rápida y que cumplen con los parámetros de calidad requeridos para su consumo.

VI. REFERENCIAS

- Al-ghamdi, A.; Eldin, S.; Mohammed, A.; Javed, M.; Adgaba, N. (2019). Comparison of physicochemical properties and effects of heating regimes on stored *Apis mellifera* and *Apis florea* honey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26 (4), 845-848. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.06.002>
- Aljohar, H. I.; Maher, H. M.; Albaqami, J.; Al-mehaizie, M.; Orfali, R.; Orfali, R.; Alrubia, S. (2018). Physical and chemical screening of honey samples available in the Saudi market : An important aspect in the authentication process and quality assessment. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26 (7), 932-942. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.04.013>
- AOAC. Official methods of analysis of the association of official's analytical chemists (2003). 17th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia..
- Balcázar-Cruz, L.; Valadez-Villarreal, A.; López-Naranjo, J.; Ochoa-Flores, A.; Rodríguez-Blanco, L.; López-Hernández, E. (2019). Relación del contenido de flavonoides y color en miel de abeja (*Apis mellifera*) originaria del estado de Tabasco, México. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4, 818-825.
- Barrera, O. I. C. y Llanos, G. A. H. (2023). Factores que determinan las propiedades fisicoquímicas de la miel de abejas: Revisión Sistemática de Literatura. *Revista Mutis*, 13(1), 1-28. <https://doi.org/10.21789/22561498.1851>
- Barrón-Yáñez, R. M.; García-Mateos, R.; Soto-Hernández, M. R.; Colinas-León, T.; Kite, G. (2011). Flavonoides y actividad antioxidante de *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34 (3), 151-157.
- Benzie, I. F., Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Boussaid, A.; Chouaibi, M.; Rezig, L.; Hellal, R.; Donsi, F.; Ferrari, G.; Hamdi, S. (2018). Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*, 11, 265-274. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.08.011>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Campo Fernández, M., Sojos Asencio, C. G., Bastidas Bastidas, E. V., Silva Susal, K. M., Matute Castro, N. L., Cun Carrión, J. V., Márquez Hernández, I. (2019). Design of an infusion of *Moringa oleifera* L.(moringa) leaves and *Theobroma cacao* L.(cocoa) husk. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 24(1). <https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/803/357>
- Ciappini, M. C., Stoppani, F. S., Martinet, R., Alvarez, M. B. (2013). Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Revista de Ciencia y Tecnología*, (19), 45-51.
- Cocinschi, V. V. (2019). Efectos terapéuticos de la miel de abeja tópica en el tratamiento de heridas. revisión bibliográfica. [Tesis de grado Universita Rovira i Virgili]. Ripositori institucional de la URV <http://hdl.handle.net/20.500.11797/TFG2090>
- Coronado Jorge, M. F., Ormeño Luna, J., Barrera Lozano, M., Castillo Díaz, T. (2019). Caracteres fisicoquímicos en mieles del ecosistema del Bajo Mayo, región San Martín, Perú. *Arnaldoa*, 26(2), 607-622.
- CXS 12-1981. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Codex Alimentarius. Norma para la miel.

- Delmoro, J., Muñoz, D., Nadal, V., Clementz, A., Pranzetti, V. (2010). El color en los alimentos: determinación de color en mieles. *Invenio: Revista de investigación académica*, (25), 145-152.
- Muñoz Jáuregui, A. M., Alvarado-Ortiz Ureta, C., Blanco Blasco, T., Castañeda Castañeda, B., Ruiz Quiroz, J., Alvarado Yarasca, Á. (2014). Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. *Revista de la sociedad química del Perú*, 80(4), 287-297.
- Džugan, M., Tomczyk, M., Sowa, P., & Grabek-Lejko, D. (2018). Antioxidant activity as biomarker of honey variety. *Molecules*, 23(8), 2069. <https://doi.org/10.3390/molecules23082069>
- Ferreira, I. C., Aires, E., Barreira, J. C., & Estevinho, L. M. (2009). Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food chemistry*, 114(4), 1438-1443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.028>
- García-Chaviano, M. E., Armenteros-Rodríguez, E., Escobar-Álvarez, M. D. C., García-Chaviano, J. A., Méndez-Martínez, J., & Ramos-Castro, G. (2022). Composición química de la miel de abeja y su relación con los beneficios a la salud. *Revista Médica Electrónica*, 44(1), 155-167.
- Granda, I. V. (2022). Caracterización físico-química y análisis de la capacidad antimicrobiana de mieles de abeja sin aguijón (Tribu Meliponini) en Ecuador [Tesis doctoral inédita]. Universidad de Sevilla.
- Hernández Aguirre, L. S. (2014). Determinación del potencial nutracéutico y la actividad antioxidante de la miel propolizada elaborada por la Empresa APICARE, Riobamba-Chimborazo [Tesis de grado Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3190>
- Huidobro, J. F.; Simal, J. (2014) Determinación del color y de la turbidez en mieles, pp 225-245.
- Huidobro, J. F.; Simal, J.; Araquistain, J. (1983). Parámetro de calidad de la miel - determinación de la intensidad de color. pp 391-394.
- Kędzierska-Matysek, M., Florek, M., Wolanciuk, A., Barłowska, J., Litwińczuk, Z. (2018). Concentration of minerals in nectar honeys from direct sale and retail in Poland. *Biological trace element research*, 186, 579-588. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1315-0>
- Sant'Ana, L. D. O., Buarque Ferreira, A. B., Lorenzon, M. C. A., Berbara, R. L. L., Castro, R. N. (2014). Correlation of total phenolic and flavonoid contents of Brazilian honeys with colour and antioxidant capacity. *International Journal of Food Properties*, 17(1), 65-76. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.614368>
- Martell-Tamanis, A. Y., Lobato-Rosales, F. G., Landa-Zárate, M., Luna-Chontal, G., García-Santamaría, L. E., Fernández-Lambert, G. (2019). Variables de influencia para la producción de miel utilizando abejas Apis mellifera en la región de Misantla. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(6), 1353-1365. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1690>
- Maza Izquierdo, J. A. (2021). Caracterización físico-química y determinación del perfil polifenólico de miel de abeja (*Apis mellifera* L.) en tres zonas de la región San Martín. [Tesis doctoral inédita]. Universidad de San Martín.
- Moniruzzaman, M., Chowdhury, M. A. Z., Rahman, M. A., Sulaiman, S. A., Gan, S. H. (2014). Determination of mineral, trace element, and pesticide levels in honey samples originating from different regions of Malaysia compared to Manuka honey. *BioMed research international*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/359890>.
- Montenegro, G., Santander, F., Claudia, J. A. R. A., Nuñez, G., Fredes, C. (2013). Actividad antioxidante y antimicrobiana de mieles monoflorales de plantas nativas chilenas. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 12(3), 257-268.
- Morroni, G., Alvarez-Suarez, J. M., Brenciani, A., Simoni,

- S., Fioriti, S., Pugnali, A., ... Giovanetti, E. (2018). Comparison of the antimicrobial activities of four honeys from three countries (New Zealand, Cuba, and Kenya). *Frontiers in microbiology*, 9, 1378. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01378>
- Muñoz Jáuregui, A. M., Alvarado-Ortiz Ureta, C., Blanco Blasco, T., Castañeda Castañeda, B., Ruiz Quiroz, J., Alvarado Yarasca, Á. (2014). Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. *Revista de la sociedad química del Perú*, 80(4), 287-297.
- Navarro-Martínez, A., Del Toro-Sánchez, C. L., Aguilar, A. J., Aguilar-Martínez, J., Padilla-Frausto, J. J., NavarroVillarruel, C. L., ... & Robles-García, M. A. (2021). Determinación de las características fisicoquímicas de mieles del Occidente de México. *Avances de Investigación en Inocuidad de Alimentos*, 4, 6-6.
- NOM-004-SAG/GAN-2018. Secretaría de gobernación. Norma oficial mexicana, Producción de miel y especificaciones.
- NTC-1273. Instituto colombiano de normas técnicas y certificación (ICONTEC). Norma técnica colombiana. Miel de abeja
- NTE INEN 1632. Instituto Ecuatoriano de normalización. Norma técnica ecuatoriana, Miel de abejas. Determinación de la densidad relativa a 27°C y de la humedad
- NTE INEN 1636. Instituto Ecuatoriano de normalización. Norma técnica ecuatoriana, Miel de abejas. Determinación de las cenizas
- Rojas Vélez, T. (2020). Revisión bibliográfica del análisis sensorial de mieles monoflorales españolas. [Tesis en opción al grado de maestro en ciencias Universitat Politècnica de Valencia]. Repositorio Universitat Politècnica de Valencia. <http://hdl.handle.net/10251/151578>
- Romanet, R., Coelho, C., Liu, Y., Bahut, F., Ballester, J., Nikolantonaki, M., Gougeon, R. D. (2019). The antioxidant potential of white wines relies on the chemistry of sulfur-containing compounds: An optimized DPPH assay. *Molecules*, 24(7), 1353. <https://doi.org/10.3390/molecules24071353>
- Sethi, S., Joshi, A., Arora, B., Bhowmik, A., Sharma, R. R., Kumar, P. (2020). Significance of FRAP, DPPH, and CUPRAC assays for antioxidant activity determination in apple fruit extracts. *European Food Research and Technology*, 246, 591-598. Simal, J.; Huidobro, J.; Araquistain, J. Parametros de calidad de la miel: determinación del contenido en agua. En *Bromatología*; 2014; pp 343-349.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- do Nascimento, K. S., Sattler, J. A. G., Macedo, L. F. L., González, C. V. S., de Melo, I. L. P., da Silva Araújo, E., de Almeida-Muradian, L. B. (2018). Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. *LWT*, 91, 85-94. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.016>
- Suescún, L., Vit, P. (2008). Control de calidad de la miel de abejas producida como propuesta para un proyecto de servicio comunitario obligatorio. *Fuerza farmacéutica*, 12(1), 6-15.
- Grembecka, M., Szefer, P. (2013). Evaluation of honeys and bee products quality based on their mineral composition using multivariate techniques. *Environmental monitoring and assessment*, 185, 4033-4047. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2847-y>
- Vivanco, I. M., Villavicencio, B. X. (2020). El mercado de la producción de miel de abeja en la provincia del Guayas (Ecuador). *Revista ESPACIOS*, 798, 1015.
- Warui, M. W., Hansted, L., Gikungu, M., Mburu, J., Kironchi, G., Bosselmann, A. S. (2019). Characterization of Kenyan honeys based on their physicochemical properties, botanical and geographical origin. *International journal of food science*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/2932509>