

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Agroindustria Alimentaria
Ingeniería en Agroindustria Alimentaria



Proyecto Especial de Graduación

Efecto de la pasteurización en propiedades químicas, microbiológicas y sensoriales de la miel de abeja melipona (*Tetragonisca angustula*)

Estudiante

Yoselin Lisbeth Aguilar Piedra

Asesoras

Carolina Valladares, M.Sc.

Mayra Márquez González, Ph.D.

Honduras, noviembre 2021

Autoridades

TANYA MÜLLER GARCÍA

Rectora

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ADELA M. ACOSTA MARCHETTI

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros.....	4
Índice de Figura.....	5
Índice de Anexos.....	6
Resumen	7
Abstract.....	8
Introducción.....	9
Materiales y Métodos.....	13
Resultados y Discusión.....	18
Conclusiones	28
Recomendaciones.....	29
Referencias.....	30
Anexos.....	38

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Parámetros microbiológicos de la miel abeja <i>Apis mellifera</i>	17
Cuadro 2 Descripción de los tratamientos de miel de abeja melipona <i>Tetragonisca angustula</i>	17
Cuadro 3 Resultados de análisis químicos. valor de pH de <i>T. angustula</i> después de la pasteurización	18
Cuadro 4 Resultados de análisis químicos: Aw de la miel de <i>T. angustula</i> después de la pasteurización.	20
Cuadro 5 Resultado de análisis químicos: Grados brix de la miel de <i>T. angustula</i> después de la pasteurización.....	21
Cuadro 6 Resultado de análisis microbiológicos: Recuento de coliformes totales en la miel pasteurizada de abeja melipona <i>T. angustula</i>	22
Cuadro 7 Resultado de análisis microbiológicos. Recuento de bacterias mesófilas aerobias en la miel pasteurizada de abeja melipona <i>T. angustula</i>	23
Cuadro 8 Resultados de análisis microbiológicos. Recuento de hongos y levaduras en la miel pasteurizada de abeja melipona <i>T. angustula</i>	24
Cuadro 9 Resultado de análisis sensorial: Aceptación de la apariencia y color de la miel pasteurizada de <i>T. angustula</i>	26
Cuadro 10 Resultado de análisis sensorial: Aceptación general, sabor y dulzura de la miel de <i>T.</i> <i>angustula</i> pasteurizada.....	27

Índice de Figura

Figura 1 Metodología usada para el análisis microbiológico.....	15
---	----

Índice de Anexos

Anexo A Probabilidades estadísticas de los análisis químicos y microbiológicos.....	39
Anexo B Correlación entre atributos sensoriales después de la pasteurización de la miel.	40
Anexo C Correlación entre atributos sensoriales con aceptación general después de la pasteurización de la miel.....	41
Anexo D Formato hoja de evaluación sensorial.....	38

Resumen

La miel de *Tetragonisca angustula*, es un alimento natural que por la manipulación durante la cosecha y por su alto contenido de humedad puede requerir del uso de tratamientos térmicos que aseguren su inocuidad y le permitan mayor vida anaquel. La pasteurización es utilizada en miel de otras especies de abejas, pero puede provocar cambios en las propiedades sensoriales y nutricionales disminuyendo la aceptación de la miel. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del tipo de pasteurización en las propiedades químicas, microbiológicas y sensoriales de la miel de abeja (*T. angustula*). Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA), con tres repeticiones y tres tratamientos: LTLT (60 ± 2 °C por 30 minutos), HTST (80 ± 2 °C por 90 segundos) y miel sin calentar. A cada unidad experimental se le realizó análisis químicos (pH, Aw, °brix), análisis microbiológicos (coliformes totales, mesófilos aerobios, hongos y levaduras) y análisis sensorial afectivo mediante la prueba de aceptación (atributos de apariencia, color, sabor, dulzura, consistencia y aceptación general). Se concluyó que la pasteurización mantuvo el pH y Aw de la miel sin calentar, pero ambos tratamientos aumentaron el valor de sólidos solubles. Ambos tratamientos disminuyeron los conteos de coliformes totales, hongos y levaduras, pero no tuvieron efecto sobre los recuentos de mesófilos aerobios. Ambos tratamientos de pasteurización aumentaron la aceptación del color y apariencia, pero mantuvieron la aceptación de sabor, dulzura y aceptación general de la miel sin calentar. Se recomienda realizar análisis fisicoquímicos descritos en la norma salvadoreña NSO 67.19.01:08.

Palabras clave: Apariencia, coliformes, hongos, levaduras, mesófilos.

Abstract

Honey from *Tetragonisca angustula* is a natural food that due to handling during harvesting and its high moisture content may require the use of heat treatments to ensure its safety and allow it to have a longer shelf life. Pasteurization is used in honey from other bee species, but it can cause changes in the sensory and nutritional properties, decreasing the acceptance of honey. The objective of this study was to evaluate the effect of the type of pasteurization on chemical, microbiological and sensory properties of bee honey (*T. angustula*). A Randomized Complete Block (RCB) design was used, with three replicates and three treatments: LTLT (60 ± 2 °C for 30 minutes), HTST (80 ± 2 °C for 90 seconds) and unheated honey. Each experimental unit underwent chemical analysis (pH, A_w , °brix), microbiological analysis (total coliforms, aerobic mesophiles, fungi and yeasts) and affective sensory analysis by means of the acceptance test (attributes of appearance, color, flavor, sweetness, consistency and general acceptance). It was concluded that pasteurization maintained the pH and A_w of unheated honey, but both treatments increased the soluble solids value. Both treatments decreased total coliform, fungal and yeast counts, but had no effect on aerobic mesophilic counts. Both pasteurization treatments increased the acceptability of color and appearance but maintained the acceptability of flavor, sweetness, and overall acceptability of unheated honey. It is recommended to perform physicochemical analyses as described in the Salvadoran standard NSO 67.19.01:08.

Key words: Appearance, coliforms, fungi, mesophiles, yeasts.

Introducción

La miel es fabricada a partir de néctar de las plantas que las abejas obreras recogen, transforman, combinan con sustancias propias que deshidratan, almacenan, maduran y añejan (CXS 12 1981) (CODEX 1981). Posteriormente, es cosechada por el hombre para su consumo junto con otros alimentos o para la preparación de medicamentos (Meo *et al.* 2017). La miel es un alimento que se ha consumido desde la antigüedad siendo así que el hombre domina el arte de criar y manejar distintas especies de abejas para beneficio de poblaciones humanas. Notablemente, la abeja más estudiada por el volumen de miel que llegan a producir es la *Apis mellifera*, sin embargo, existen otras especies de abejas, que se caracterizan por la ausencia de aguijón y son ejemplo de ello las abejas meliponas (Crane y Kirk Visscher 2009).

La meliponicultura, es la crianza y manejo de abejas sin aguijón, práctica que data desde las culturas prehispánicas avanzadas de Mesoamérica (González Acereto 2012). Dentro de la variedad de abejas sin aguijón la *Tetragonisca angustula* es una especie de abeja melipona que destaca por su adaptabilidad y capacidad de almacenar miel en sus colmenas (Correa Mosquera 2015). La miel de *T. angustula* es compuesta mayormente por azúcares (fructosa y glucosa), agua y ceniza (Fuenmayor *et al.* 2012) y es utilizada como tratamiento para cataratas oculares, carnosidad, conjuntivitis, úlceras oculares y dérmicas entre otros (Huicochea Gómez 2011).

La miel de *T. angustula* al igual que la miel de otras especies de abejas, al momento de ser cosechada, puede ser contaminada por el viento, insectos y/o una manipulación poco higiénica durante la extracción y procesado. A pesar de tener pH ácido que podría fungir como barrera microbiológica se ha encontrado que la alta humedad de esta miel favorece al deterioro, por lo que afecta su inocuidad y limita su comercialización (Zarei *et al.* 2019).

Entre los microorganismos que han sido aislados de la miel de abeja encontramos los del género de hongos como *Penicillium*, *Mucor*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* y *Torula* (Migdał *et al.* 2000). También se han encontrado bacterias formadoras de esporas como *Bacillus cereus* y

Clostridium spp., que pueden llegar a provocar importantes enfermedades en los seres humanos, especialmente bacterias como *Clostridium botulinum* (Vorst *et al.* 2006). Los reportes de microorganismos de este tipo en la miel pudieron estar relacionados con la contaminación cruzada por la manipulación durante la cosecha o el procesamiento (Grabowski y Klein 2017).

Pucciarelli *et al.* (2014) indicaron que la mieles de abejas no son un medio propio para el desarrollo de bacterias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* o *Salmonella* y lo atribuye al contenido de peróxido, al pH bajo, al contenido de ácidos fenólicos/flavonoides y a la osmolaridad de la miel (Almasaudi 2021). La *Escherichia coli* pertenece al grupo de coliformes totales y junto con *Salmonella* son indicadores de calidad e inocuidad en la miel establecidas por la norma salvadoreña NSO 67.19.01:08 (CONACYT 2008). La presencia de estos microorganismos en la miel suelen ser indicativo de contaminación fecal, malas condiciones higiénicas o existencia de patógenos entéricos (Ekici y Dümen 2019).

Actualmente, no existen estándares en cuanto a métodos de conservación para miel de abeja que aseguren la disminución de la carga microbiana a niveles que permitan el consumo seguro sin alterar significativamente las características sensoriales de la miel de meliponas. Actualmente existen formas de acondicionamiento para la miel de *A. mellifera* como la deshidratación y pasteurización (CONICET 2018) pero todavía hace falta profundizar los estudios y diversificarlos para tratar mieles de diferentes características fisicoquímicas. Al profundizar en estos estudios se permitiría que los pequeños meliponicultores puedan aplicar tratamientos que alarguen la vida anaquel de la miel y en este sentido, la pasteurización por medio del baño María podría presentarse como una solución práctica.

La pasteurización es un método de conservación térmico relativamente leve que consiste en calentar el alimento por debajo de los 100 °C para luego bajar inmediatamente la temperatura causando un choque térmico (Badui Dergal 2006). En la mediana y grande industria, la pasteurización generalmente se aplica utilizando intercambiadores de calor o directamente en su envase (Pérez

Reyes y Sosa Morales 2013) pero a pequeña escala, se realiza mediante uso del baño maría sumergiendo envases con el alimento en agua caliente (OSU 2014). La pasteurización provoca destrucción de microorganismos patógenos y controla la actividad enzimática causando modificaciones mínimas en la composición nutritiva y organoléptica del alimento.

Según Aguilar Morales (2012), existen dos grupos marcados de métodos de pasteurización, uno usando altas temperaturas (75 – 90 °C) en tiempos cortos, durante unos minutos llamado “High Temperature Short Time” (HTST por sus siglas en inglés). Con el segundo método usan bajas temperaturas (± 62 °C) en tiempos prolongados, durante 20 a 30 minutos, llamado “Low Temperature Long Time” (LTLT por sus siglas en inglés). La pasteurización de la miel de *Apis mellifera* podría retrasar la fermentación permitiendo que esta mantenga sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales por mayor tiempo pues por efecto de calor se inactivan enzimas y se reduce la carga de microorganismos como mohos y levaduras (Visquert Fas 2015).

En miel de melipona, la fermentación ocurre por su alto contenido de agua lo que permite el deterioro de las características organolépticas ya que las bacterias o levaduras convierten los carbohidratos en ácidos, gas o alcohol reduciendo su vida anaquel (Clayton *et al.* 2012). La pasteurización de la miel de *A. mellifera* no afecta la calidad de la miel, aunque aplicarla de manera inadecuada puede disminuir el aroma, producir pérdida de sabores, aumentar el hidroximetilfurfural (HMF) oscureciendo la miel (AGA 2014; Visquert Fas 2015) y disminuyendo la calidad percibida por el consumidor (Martínez Peralta 2018).

El HMF es un alterante que se forma en la miel por la deshidratación térmica directa de fructosa, sacarosa y en menor grado glucosa, que se acelera significativamente en condiciones ácidas (Gökmen y Morales 2013). El HMF es un parámetro de frescura de la miel y su presencia produce un oscurecimiento el cual aumenta con la aplicación de tratamientos térmicos (Bicudo *et al.* 2020). Según la norma salvadoreña NSO 67.19.01:08 (CONACYT 2008) el límite de HMF en miel de *Apis mellifera* es de 40 u 80 mg/kg en zonas tropicales (CODEX 1981).

La miel de *T. angustula* y las mieles de otras especies de abejas meliponas, no cuentan con una normativa que indique los parámetros fisicoquímicos ni microbiológicos que permitirían valorar la calidad de esta miel. Para este estudio, los resultados químicos y microbiológicos tomaron como base los parámetros establecidos en la norma salvadoreña NSO 67.19.01:08 para plantas exportadoras de miel de abeja melífera (CONACYT 2008). En este estudio no se evaluó el efecto de la pasteurización en la calidad nutricional de la miel, tampoco se realizaron los análisis de hidroximetilfulfural (HMF), azúcares reductores, sacarosa aparente, sólidos insolubles, *Salmonella*, acidez libre, entre otros. Los objetivos de este estudio fueron evaluar el efecto de la pasteurización en las propiedades químicas en la miel de abeja *T. angustula*, determinar el efecto de la pasteurización en la microbiología de la miel de abeja *T. angustula* y establecer el efecto de la pasteurización en la aceptación de la miel de abeja *T. angustula*.

Materiales y Métodos

Localización del Estudio

El estudio se realizó en las instalaciones de la Escuela Agrícola Panamericana situada en el valle del río Yegüare, ubicado a 30 km al este de Tegucigalpa, Francisco Morazán, Honduras. Los tratamientos térmicos se realizaron en la Planta Apícola, los análisis químicos en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ) y los análisis microbiológicos en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano (LMAZ). Finalmente, los análisis sensoriales se realizaron en el laboratorio de análisis sensorial de la Planta de Innovación de Alimentos (PIA) del Departamento de Agroindustria Alimentaria.

Materia Prima

Las muestras de miel de abejas meliponas *Tetragonisca angustula* fueron cosechadas de las colmenas de Zamorano en el Valle de Yegüare en el año 2021. La miel era de origen multifloral y posiblemente las abejas colectaron el néctar de la floración de árboles de mango (*Mangifera indica*) y Guayacán (*Tabebuia chrysantha*).

Procedimiento de la Pasteurización de la Miel

El proyecto consistió en la aplicación de dos tratamientos térmicos de pasteurización y una muestra de miel sin tratamiento térmico que funcionó como control. Los tratamientos térmicos que se aplicaron fueron: baja temperatura largo tiempo o LTLT (60 ± 2 °C durante 30 min) (SENASICA Y CGG 2015) y alta temperatura corto tiempo o HTST (80 ± 2 °C durante 90 segundos) (Tosi *et al.* 2004). Se realizó un baño maría, es decir que se sumergieron cada frasco de cristal con 150 g de miel en agua caliente a 70 °C para el LTLT y a 90 °C en el HTST, hasta que alcanzaron las temperaturas requeridas y se monitoreo la temperatura del centro del frasco utilizando un termómetro digital. Se tomó el tiempo de pasteurización a partir de que la miel del centro del envase alcanzó la temperatura requerida para cada tratamiento y finalizado el tratamiento de pasteurización, cada envase fue sumergido en una

bandeja con agua a temperatura ambiente (27 °C) hasta que independiente del tiempo, la miel alcanzó 30 °C.

Análisis Químicos

Potencial De Hidrógeno (pH)

Se utilizó el método de la AOAC 962. 19 con el potenciómetro “Large Display pH pen” de la Planta Apícola, el cuál fue previamente calibrado con las soluciones buffer de 4, 7 y 10. Se realizaron tres repeticiones tomando un dato por cada tratamiento en cada repetición.

Actividad De Agua (Aw)

Se midió la actividad de agua (Aw) con el método AOAC 978.18, utilizando el Aqualab®, modelo 3 TE que se encuentra en el laboratorio de análisis de alimentos de Zamorano (LAAZ). Este equipo funciona midiendo la condensación de vapor sobre un espejo frío utilizando una escala de 0 a 1 con una temperatura aproximada de 25 °C. Se realizaron tres repeticiones tomando un dato por cada tratamiento por repetición.

Sólidos Solubles (°Brix)

Para determinar los grados Brix de los tratamientos se siguió el método AOAC 983.17 utilizando un Pocket Digital Refractometer, modelo PAL 225. Se limpió el lente entre muestra evaluada y se realizaron tres repeticiones tomándose un dato por cada tratamiento por cada repetición.

Análisis Sensorial

Análisis Sensorial Afectivo Con Prueba De Aceptación

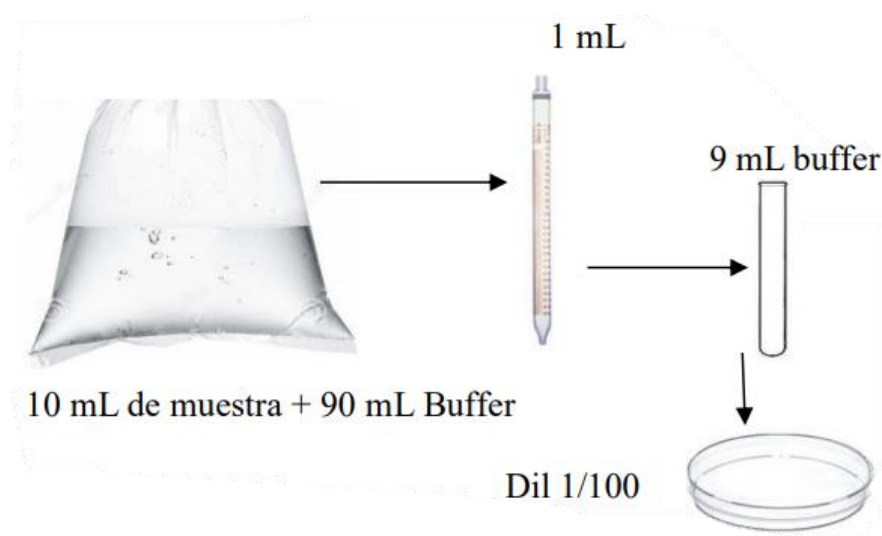
Se contó con la presencia de 20 panelistas no entrenados en cada repetición y la prueba se basó en la evaluación de los atributos de apariencia, color, dulzura, viscosidad, acidez y aceptación general de la miel. Los panelistas evaluaron las muestras utilizando una escala hedónica de nueve puntos, donde uno correspondía a “me disgusta extremadamente” y nueve a “me gusta extremadamente” (Anexo A).

Análisis Microbiológicos

Para cada análisis se usaron 10 gramos de muestra por tratamiento y se disolvieron en 90 mL de buffer de fosfato siendo esta la primera dilución (10^1) y se homogeneizó posteriormente utilizando el equipo "Stomacher SEWARD 400 circulator". Luego se realizó otra dilución en un tubo agregando 1 mL de la dilución 10^1 más 9 mL de buffer fosfato para obtener la segunda dilución (10^2). Se inoculó usando la técnica de vaciado en placa 1 mL de la dilución 10^1 en el análisis de coliformes totales, hongos y levaduras y de las diluciones 10^1 y 10^2 para mesófilos aerobios. Se incubó en su respectivo agar por el tiempo determinado para los microorganismos de interés (Figura 1). Los resultados fueron transformados a logaritmos para facilitar su análisis. Se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento tomándose un dato por cada repetición.

Figura 1

Metodología usada para el análisis microbiológico.



Nota. Adaptado de Cocón Marroquin (2020)

Mesófilos Aerobios

Se utilizó como medio de cultivo Agar Cuenta Estándar (ACE) realizando la técnica de vaciado en placa (Maturin y Peeler 1995). Se realizaron dos diluciones (10^2) inoculando un plato Petri con cada

dilución y se mantuvo en la incubadora (ThermoScientific 6850) durante 48 horas a una temperatura de 35 ± 1 °C y finalmente se realizó el conteo. Los resultados se expresaron en Log UFC/g.

Hongos y Levaduras

Para este análisis se utilizó Agar Diclorán Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) (Tournas *et al.* 1995) con el método de vertido en placa. Se sembró 1 mL de la primera dilución (10^1) en un plato Petri y se llevaron las muestras a la incubadora (ThermoScientific 6850) a 25 °C ± 1 por 5 días. Los resultados se expresaron en Log UFC/g.

Coliformes Totales

Se utilizó Agar Bilis Rojo Violeta (VRBA) como medio de cultivo (Feng *et al.* 1995) y se sembró con el método de vertido en placa. Se inoculó un plato petri con 1 mL de la dilución 10^1 a la que se le añadieron aproximadamente 15 mL de VRBA, después de que el agar solidificó, se añadió aproximadamente 5 mL más. Por último, se incubó a 35 ± 1 °C durante 24 horas en la incubadora “ThermoScientific 6850”. Para el recuento se utilizó un contador de colonias y los resultados se expresaron en Log/UFC.

Los resultados microbiológicos se compararon con los parámetros establecidos en la norma salvadoreña NSO 67.19.01:08 para plantas exportadoras de miel de abeja (Cuadro 1) ya que no existe una reglamentación para la miel de *T. angustula*.

Cuadro 1

Parámetros microbiológicos de la miel abeja Apis mellifera.

Parámetro	Máximo permisible
Mesófilos aerobios	1×10^4 UFC/g
Hongos y levaduras	1×10^2 UFC/g
Coliformes totales	Ausencia

Nota. Tomado de CONACYT (2008)

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Se usó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con tres tratamientos (Cuadro 2) y tres repeticiones para cada uno, obteniéndose un total de nueve unidades experimentales. Para realizar el análisis estadístico se utilizó el programa SAS® 9.4 “Statistical Analysis System” a través de un análisis de varianza y una separación de medias Duncan para identificar las diferencias entre tratamientos con una probabilidad ($P \leq 0.05$).

Cuadro 2

Descripción de los tratamientos de miel de abeja melipona Tetragonisca angustula.

Tratamiento	Descripción
T1	LTLT 60 ± 2 °C /30 minutos
T2	HTST 80 ± 2 °C /30 segundos
T3	Miel sin recibir tratamiento térmico (control)

Resultados y Discusión

Análisis Químicos

Potencial de Hidrógeno (pH)

En el Cuadro 3 se puede observar que la valoración de pH independientemente del tratamiento térmico fue estadísticamente igual entre tratamientos ($P \geq 0.05$) (Anexo A). Estos resultados coinciden con los de Lagos Gomez (2020), quien sometió la miel de *T. angustula* a un tratamiento térmico a 72 °C durante dos minutos concluyendo que la variabilidad del pH no depende del tratamiento térmico sino del origen botánico. La ausencia de variabilidad se pudo relacionar con el origen floral del néctar ya que las colmenas se encuentran en la misma zona y durante la cosecha de néctar predominó la floración de mango y guayacán.

Cuadro 3

Resultados de análisis químicos: valor de pH de miel de *T. angustula* después de la pasteurización.

Tratamiento	Media \pm D.E.
LTLT 60 \pm 2 °C /30 minutos	4.70 \pm 0.17 ^a
HTST 80 \pm 2 °C /30 segundos	4.67 \pm 0.25 ^a
Control	4.67 \pm 0.15 ^a
C.V. (%)	1.88

Nota. ^a Medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferentes ($P \geq 0.05$). CV (%) = Coeficiente de Variación. D.E. = Desviación Estándar.

Estudios con miel de abeja *T. angustula* indican el pH de esta miel oscila entre 3.26 – 7.4 (Anacleto *et al.* 2009; Vit *et al.* 2016) con un pH promedio de 4.2 \pm 0.3 (Fuenmayor *et al.* 2012). El pH de la miel se relaciona con los minerales, ácidos orgánicos y sustancias nitrogenadas que la componen y depende en gran medida del origen botánico del néctar a partir del cual las abejas la producen (Dardón y Enríquez 2008). Los ácidos orgánicos son sustancias que son capaces de donar iones de hidrógeno a otra sustancia disminuyendo el pH (Boyd 2020), el principal ácido orgánico en la miel es el glucónico, el cual resulta de la actividad de la enzima glucosa oxidasa (Ulloa *et al.* 2010).

El tipo de microorganismos que se desarrollan en alimentos con este rango de pH son hongos y levaduras (Carrizo Villoldo *et al.* 2020). Los hongos comúnmente presentes son *Cladosporium*,

Penicillium o *Alternaria* y con menos frecuencia los hongos del géneros *Mucor*, *Aureobasidium*, *Acremonium*, *Botrytis*, *Stachybotrys* y *Paecilomyces* (Kiš *et al.* 2018; Kiš *et al.* 2019). En cuanto a levaduras las más comunes son *Candida parapsilosis*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Zygosaccharomyces mellis*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Tausonia pullulans*, *Lachancea thermotolerans*, *Lachancea fermentati*, *Torulaspota delbrueckii* y *Saccharomyces cerevisiae* (Carrizo Villoldo *et al.* 2020). En el rango de pH de esta miel también podríamos encontrar bacterias ácido lácticas provenientes de la microbiota intestinal de las abejas (Fernández Roblero *et al.* 2019).

Actividad de Agua (Aw)

El Cuadro 4 muestra que los valores de Aw entre tratamientos no fueron estadísticamente diferentes ($P \geq 0.05$) (Anexo B). Los resultados coinciden con los de Ribeiro *et al.* (2018), quienes sometieron la miel de *Melipona fasciculata* a 65 °C durante 30 minutos y tampoco encontraron cambios significativos en este valor. Actividad de agua en ocasiones denominada agua libre o disponible, se refiere la proporción de agua disponible para reacciones biológicas o químicas (Fernández 2011). En el caso de la miel, Chirife *et al.* (2006) encontraron que la Aw es principalmente determinada por las concentraciones de fructosa y glucosa que son más abundantes en la miel. Las moléculas de agua interactúan con las macromoléculas, como los carbohidratos, a través de interacciones hidrófilas o hidrófobas (Syamaladevi *et al.* 2016). La aplicación de temperaturas elevadas en los alimentos debilita los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua con biomoléculas y entre las moléculas de agua (Harvey y Friend 2004). El agua ligada liberada por la ruptura de los enlaces de hidrógeno causado por el tratamiento térmico pudo reemplazar el agua libre evaporada en la pasteurización manifestándose en la ausencia de variación de los valores de actividad de agua.

Cuadro 4

Resultados de análisis químicos: Aw de la miel de T. angustula después de la pasteurización.

Tratamiento	Media ± D.E.
LTLT 60 ± 2 °C /30 minutos	0.688 ± 0.007 ^a
HTST 80 ± 2 °C /30 segundos	0.711 ± 0.029 ^a
Control	0.702 ± 0.027 ^a
C.V. (%)	4.06

Nota. ^a Medias seguidas de igual letra son estadísticamente iguales (P ≥ 0.05). CV (%) = Coeficiente de Variación. D.E. =Desviación Estándar.

El rango de Aw de la miel de *T. angustula* oscila entre 0.59 a 0.82 con una media de 0.66 (Anacleto *et al.* 2009) es un factor que se usa comúnmente en correlación con la inocuidad y la calidad de los alimentos ya que influye en la estabilidad alimentaria (Barbosa Cánovas *et al.* 2020). Según Ramírez Miranda *et al.* (2014) un alimento con Aw < 0.6 es considerado un alimento estable microbiológicamente ya que tiene una barrera que pudiera minimizar las reacciones bioquímicas y evitar la proliferación de microorganismos. La miel de *T. angustula* tuvo una Aw > 0.6 por lo que pudo carecer de esta barrera así que podría considerarse un alimento inestable microbiológicamente. Los microorganismos que pudieron estar presentes en alimentos con aw 0.65 – 0.75 son mohos xerófilos (*Aspergillus chevalieri*, *A. candidus*, *Wallemia sebi*, *Aspergillus echinulatus*, *Monascus bisporus*) y levaduras osmófilas *Sacharomyces rouxii* y *Saccharomyces bisporus* (Tapia *et al.* 2020).

Sólidos Solubles (°Brix)

Los resultados de la variable grados brix reportados en el Cuadro 5 indican que se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05) y los tratamientos después de la pasteurización aumentaron este valor (Anexo B). Según Rybak Chmielewska (2007), un cambio en sólidos solubles está relacionado a la proporción de glucosa, fructosa y sacarosa. En este estudio, el aumento del contenido de sólidos totales después de la pasteurización se pudo relacionar con la hidrolización de la sacarosa en fructosa y glucosa, que es la primera fase de la caramelización (Quintas *et al.* 2007). Mendieta Carrillo (2002) encontró que el contenido de sacarosa aparente en la miel de *T.angustula* fue de 2.8%, mayor que el porcentaje encontrado en la miel de *A. mellifera* y *Mellipona beecheii*.

Cuadro 5

Resultado de análisis químicos: Grados brix de la miel de T. angustula después de la pasteurización.

Tratamiento	Media \pm D.E.
LTLT 60 \pm 2 °C /30 minutos	75.83 \pm 0.29 ^a
HTST 80 \pm 2 °C /30 segundos	75.63 \pm 0.20 ^a
Control	74.70 \pm 0.26 ^b
C.V. (%)	0.33

Nota. ^{ab} Medias seguidas de diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). CV (%) = Coeficiente de Variación. D.E. = Desviación Estándar.

Los sólidos solubles de la miel de *T. angustula* en este estudio coinciden con los encontrados por Souza *et al.* (2006) y Hernández *et al.* (2015), quienes sometieron miel a un tratamiento térmico encontrando que los grados brix tienen una relación inversa con la humedad que pudo disminuir durante la pasteurización. Estudios demuestran que los organismos osmófilos se desarrollan en alimentos con altos contenidos de azúcares (Kim *et al.* 2015), ejemplo de ello son las levaduras osmófilas que son un riesgo en los alimentos ya que pueden crecer en condiciones ácidas y altas concentraciones de azúcar (Sereia *et al.* 2011). Las levaduras fermentan la miel a través del tiempo causando deterioro en las características sensoriales y químicas afectando la calidad sensorial y reduciendo la vida anaquel (Guo *et al.* 2011; Fernandes *et al.* 2018).

Análisis Microbiológicos

Coliformes Totales

El Cuadro 6 muestra que se encontró diferencias estadísticas entre tratamientos ($P \leq 0.05$) en los recuentos de coliformes totales (Anexo B). En este estudio los recuentos de coliformes totales de ambos tratamientos de pasteurización fueron menores al límite de detección ($< 1 \log$ UFC/g). De acuerdo con OIRSA (2007), cuando los resultados de coliformes totales y fecales estén por debajo del límite de detección del método, entonces se declara como una completa ausencia. Sin embargo, por el método HTST todas las muestras estuvieron por debajo del límite, mientras que en el tratamiento LTLT solo dos de tres repeticiones lo estuvieron, encontrándose 10 UFC/g en una repetición analizada.

Por lo tanto, solo el tratamiento de HTST cumplió con los límites establecidos en la Norma técnica salvadoreña para la miel 67.19.01:08 (CONACYT 2008).

Cuadro 6

Resultado de análisis microbiológicos: Recuento de coliformes totales en la miel pasteurizada de abeja melipona T. angustula.

Tratamiento	Media (log UFC/g) ± D.E.
LTLT 60 ± 2 °C /30 minutos	0.80 ± 0.17 ^b
HTST 80 ± 2 °C /30 segundos	0.70 ± 0.00 ^b
Control	2.67 ± 0.26 ^a
C.V. (%)	10.58

Nota. ^{ab} Medias seguidas de diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). CV (%) = Coeficiente de Variación. D.E. =Desviación

Estándar. Límite de detección 10 UFC.

Independiente del tratamiento de pasteurización, se observó la reducción de 2 log UFC/ g de la carga microbiana de coliformes totales. Las bacterias coliformes se consideran organismos indicadores porque su presencia en los alimentos indica que las circunstancias son adecuadas para entéricos y pueden significar condiciones sanitarias insuficientes (Halkman HB y Halkman AK 2014). El grupo de coliformes totales incluye cuatro géneros: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, y *Enterobacter* (Marquele Oliveira *et al.* 2017). Se ha reportado la presencia de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia coli*, *Flavobacterium*, *Klebsiella* y *Pseudomonas* en la microbiota de las abejas que proviene del consumo de alimentos, polen y miel o del contacto con otras abejas obreras (Silva *et al.* 2017). Dichos microorganismos de la microbiota intestinal pueden causar una contaminación primaria de la miel (Anderson *et al.* 2013) y según Denis *et al.* (2006) la aplicación de 60 °C durante dos minutos causa una reducción decimal del conteo de debido a que los coliformes no toleran temperaturas > 59 °C. En general, la presencia de coliformes totales en la miel puede relacionarse con la contaminación cruzada durante la recolección por parte de la abeja, la cosecha por parte del apicultor y el procesamiento al no cumplir con las Buenas Prácticas de Manufactura (Aguillón *et al.* 2015). Asimismo, de acuerdo con Syamaladevi *et al.* (2016) investigaciones anteriores han identificado la importancia de la actividad del agua, que puede ser el factor más importante que influye en la resistencia térmica

de los patógenos en alimentos. En el estudio de Goepfert *et al.* (1970), se estudió la resistencia térmica de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* en un rango seleccionado de 0,75 a 0,99 en soluciones de sacarosa, fructosa, glicerol y sorbitol concluyendo que la resistencia aumentó a medida que se redujo la actividad del agua. *Escherichia coli* pertenece a un subgrupo de las bacterias coliformes, llamado coliformes fecales, diferente a los coliformes totales, lo cual, puede ser un indicador de contaminación fecal y estar relacionada con el uso de agua de riego contaminada o la presencia de heces (Li y Liu 2018).

Mesófilos Aerobios

El Cuadro 7 muestra que los resultados microbiológicos del recuento de bacterias mesófilas aerobias fueron estadísticamente similares entre tratamientos ($P \geq 0.05$) (Anexo B). A pesar de esto, todos los tratamientos cumplieron con los límites establecidos en la Norma técnica salvadoreña para la miel 67.19.01:08 (CONACYT 2008) que es 1×10^4 , es decir, 4 log.

Cuadro 7

Resultado de análisis microbiológicos. Recuento de bacterias mesófilas aerobias en la miel pasteurizada de abeja melipona T. angustula.

Tratamiento	Media (log UFC/g) \pm D.E.
LTLT 60 ± 2 °C /30 minutos	2.87 ± 0.12 ^a
HTST 80 ± 2 °C /30 segundos	2.91 ± 0.46 ^a
Control	2.95 ± 0.07 ^a
C.V. (%)	8.60

Nota. ^a Medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales ($P \geq 0.05$). CV (%) = Coeficiente de Variación. D.E. =Desviación

Estándar.

La causa de la presencia de mesófilos aerobios después de la pasteurización pudo relacionarse con la presencia de microorganismos termodúricos y/o esporas que llegan a sobrevivir a la pasteurización (Vidal y Saran Netto 2018). Los microorganismos mesófilos aerobios son aquellos que crecen en medios ricos en nutrientes a temperaturas entre 15 y 40 °C en presencia de oxígeno (Conley 2020). Las principales fuentes de contaminación microbiana de la miel provienen del néctar, polen, polvo, el aire, las mismas abejas y el manejo postcosecha. De acuerdo con Schiraldi y Rosa (2020),

algunos de los mesófilos de mayor riesgo son *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Proteus vulgaris*, *Bacillus* spp., *Clostridium botulinum* y cepas específicas de *Escherichia coli*.

Las esporas bacterianas se encuentran regularmente en la miel, particularmente las del género *Bacillus* y *Clostridium botulinum* se encuentran normalmente en niveles bajos (Snowdon y Cliver 1996). De la misma manera, el organismo termodúrico del que se han encontrado más reportes en la miel es la *Salmonella*. La salmonelosis se ha asociado con frecuencia con el consumo de alimentos con alto contenido de azúcar y poca humedad (Alshammari *et al.* 2021), por ello, la Norma Salvadoreña Obligatoria 67.19.01:08 exige la ausencia total de *Salmonella*. Sin embargo, según el estudio de se ha encontrado que la alta osmolaridad y bajo pH de la miel reducen más de 5 log₁₀ la carga microbiana inicial de 10¹⁰ UFC/g de *Salmonella* hasta llegar a conteos por debajo del límite disponible en 28 días de almacenamiento a 22 °C (Alshammari *et al.* 2021).

Hongos y Levaduras

El Cuadro 8 indica que se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento en los recuentos de hongos y levaduras ($P \leq 0.05$), se observó una reducción de 1 log UFC/g de la carga en las muestras sometidas a un tratamiento térmico (anexo A). Los resultados coinciden con el estudio de Norhayati *et al.* (2019), quienes sometieron miel a 72 °C durante 15 segundos reduciendo la carga microbiana de hongos y levaduras; hay estudios que han demostrado que no resisten temperaturas de 60 - 65 °C durante 25 -30 minutos (Eshete Y y Eshete T 2019).

Cuadro 8

Resultados de análisis microbiológicos. Recuento de hongos y levaduras en la miel pasteurizada de abeja melipona T. angustula.

Tratamiento	Media (log UFC/g) ± D.E.
LTLT 60 ± 2 °C /30 minutos	1.74 ± 0.16 ^b
HTST 80 ± 2 °C /30 segundos	1.19 ± 0.49 ^b
Control	2.99 ± 0.25 ^a
C.V. (%)	14.19

Nota. ^{ab} Medias seguidas de diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). CV (%) = Coeficiente de Variación. D.E. =Desviación Estándar.

En este estudio las muestras que se sometieron a la pasteurización cumplieron con los límites establecidos en la Norma Técnica Salvadoreña para la miel 67.19.01:08 (CONACYT 2008), que es 1×10^2 , es decir, 2 log. En este estudio, se redujo 1.25 log/g de la carga de mohos y levaduras, de este modo se cumplió con el requisito de la norma, sin embargo, el cumplimiento de la norma con la aplicación de estos tratamientos térmicos queda sujeto a la carga inicial de la miel, esta sería una limitante de los tratamientos térmicos. Las levaduras osmófilas pueden provocar una fermentación indeseada en la miel a pesar del bajo pH de la miel ya que, al ser osmófilas pueden crecer en la miel por la alta concentración de sacarosa (Kiš *et al.* 2018). De acuerdo con Deák (2013), la mayoría de las levaduras y mohos poseen una resistencia al calor similar a la de las bacterias vegetativas mesófilas. Las ascosporas de ciertos mohos, como las especies de *Byssochlamys*, *Neosartorya* y *Talaromyces*, tienen una resistencia al calor bastante alta con un valor de D de 7 a 22 min a 88 °C, y pueden sobrevivir 30 minutos al tratamiento térmico a 90 °C (Deák 2013).

Análisis Sensorial

Aceptación de la Apariencia y el Color

El Cuadro 9 nos muestra que los panelistas encontraron diferencias significativas entre tratamientos en la aceptación de la apariencia y color de la miel de *T. angustula* pasteurizada ($P \leq 0.05$). En este estudio, y en ambos tipos de pasteurización se encontró un aumento de la aceptación de la apariencia alcanzando una valoración de “me gusta mucho”.

En este estudio se obtuvieron valores de 74.70 – 75.83 ° brix en la miel de *T. angustula*, quiere decir que hay una alta cantidad de azúcares en la miel, lo que pudo influir en que los panelistas encontraran diferencias en la aceptación del color solo entre la miel sin calentar y la miel con HTST. Esto pudo suceder porque a mayor temperatura como en el tratamiento HTST, la caramelización de los azúcares y por lo tanto su oscurecimiento es más notable que en temperaturas menores como en el tratamiento LTLT. Estos resultados concuerdan con el estudio de Arrabal y Ciappini (2000), donde

los panelistas manifestaron mayor aceptación en la miel de color ámbar extra claro y ámbar claro en comparación con miel extra blanca que posee la miel de melipona sin calentar.

Cuadro 9

Resultado de análisis sensorial: Aceptación de la apariencia y color de la miel pasteurizada de T. angustula.

Tratamiento	Apariencia	Color
	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.
LTLT 60 \pm 2 °C /30 minutos	7.47 \pm 1.35 ^a	7.33 \pm 1.48 ^{ab}
HTST 80 \pm 2 °C /30 segundos	7.33 \pm 1.35 ^a	7.42 \pm 1.43 ^a
Control	6.67 \pm 1.77 ^b	6.80 \pm 1.57 ^b
CV (%)	21.09	20.75

Nota. ^{ab}Medias en la misma columna seguidas de diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). CV (%) = Coeficiente de

Variación. D.E. = Desviación Estándar. Escala hedónica (1= me disgusta extremadamente y 9= me gusta extremadamente).

En este estudio se identificó una correlación positiva entre la aceptación de apariencia con la del color (Coeficiente de Pearson = 0.82328 y $P < 0.0001$) esto quiere decir que a medida que aumentó la aceptación del color también lo hizo la aceptación de la apariencia (Anexo C). El color tiene un rol importante ya que está asociado a las creencias y cultura de los compradores, de esta manera influye en el comportamiento de elección del consumidor (Rathee y Rajain 2019). Los colores cálidos rojo, amarillo y naranja son los colores preferidos en los alimentos ya que estos estimulan el apetito (Álvarez Lara 2011).

Aceptación General, Sabor y Dulzura

En el Cuadro 10 se puede observar que independientemente del tratamiento térmico aplicado, los panelistas no encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) en cuanto a la aceptación del sabor, aceptación de la dulzura, y aceptación general de la miel. Los tratamientos de pasteurización no tuvieron repercusión en la aceptación o rechazo por parte de los consumidores respecto a estas variables y pudo relacionarse con el consumo poco frecuente de la miel de abejas meliponas (Stone *et al.* 2012). La valoración de los atributos fue de “me gusta moderadamente” a “me gusta mucho” en escala hedónica de nueve puntos.

Cuadro 10

Resultado de análisis sensorial: aceptación general, sabor y dulzura de la miel de T. angustula pasteurizada.

Tratamiento	Sabor	Dulzura	Aceptación General
	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.
LTLT 60 \pm 2 °C /30 minutos	7.00 \pm 1.48 ^a	7.28 \pm 1.63 ^a	7.35 \pm 1.12 ^a
HTST 80 \pm 2 °C /30 segundos	7.55 \pm 1.39 ^a	7.33 \pm 1.57 ^a	7.70 \pm 1.33 ^a
Control	6.98 \pm 1.59 ^a	7.33 \pm 1.58 ^a	7.30 \pm 1.29 ^a
CV (%)	20.85	21.83	16.77

Nota. ^a Medias seguidas de la misma letra en misma columna son estadísticamente iguales ($P \geq 0.05$). CV (%) = Coeficiente de Variación.

D.E. =Desviación Estándar. Escala hedónica (1= me disgusta extremadamente y 9= me gusta extremadamente).

El análisis de correlación entre atributos nos indica que hay una relación alta positiva entre la dulzura y la aceptación general, lo que significa que a medida la aceptación de la dulzura (Coeficiente de Pearson = 0.70572 y $P < 0.0001$) aumentó, la aceptación general de la miel fue mayor (Anexo D). Según Visquert Fas (2015), una mala ejecución de pasteurización puede producir pérdida de sabores, por lo tanto, se puede decir que las temperaturas y tiempos de pasteurización fueron los indicados para evitar un cambio en el sabor, dulzura y aceptación general de la miel. Según Ciappini (2005), las mieles fuertes suelen gustar a los consumidores debido a que presentan cierto contenido de dulzura y Beauchamp (2016), afirma que el poder del sabor dulce para inducir el consumo y motivar el comportamiento es profundo.

Conclusiones

La pasteurización mantuvo los valores de pH y Aw de la miel sin calentar, pero ambos tratamientos provocaron un aumento en el contenido de sólidos solubles de la miel de *T. angustula*.

Ambos tratamientos disminuyeron los conteos de coliformes totales, hongos y levaduras, pero no tuvieron efecto sobre los recuentos de mesófilos aerobios.

Ambos tratamientos de pasteurización aumentaron la aceptación del color y apariencia, pero mantuvieron la aceptación de sabor, dulzura y aceptación general de la miel sin calentar.

Recomendaciones

Realizar análisis microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales a través del tiempo para determinar la vida anaquel de la miel de *T. angustula* pasteurizada HTST.

Realizar a la miel HTST los análisis fisicoquímicos acorde con criterios descritos en la norma salvadoreña NSO 67.19.01:08, como calidad nutricional de la miel, análisis de hidroximetilfulfural (HMF), azúcares reductores, sacarosa aparente, sólidos insolubles, *Salmonella* y acidez libre.

Realizar un estudio de factibilidad técnica y económica para la producción y comercialización de miel de *T. angustula* pasteurizada con HTST.

Referencias

- [AGA] Apicultors Gironins Associats. 2014. La pasteurización de la miel. Cataluña, España; [consultado el 2 de nov. de 2020]. <http://www.aga.cat/index.php/es/articulos/articulos-de-interes/metodos-manipulacion/391-la-pasteurizacion-de-la-miel>.
- Aguilar Morales J. 2012. Métodos de conservación de alimentos. 1ª ed. México: RED Tercer Milenio S. C. 200 p. ISBN: 978-607-733-150-6; [consultado el 2 de sep. de 2021]. http://www.aliat.org.mx/BibliotecasDigitales/economico_administrativo/Metodos_de_conservacion_de_alimentos.pdf.
- Aguillón M, Hernández C, Correa A. 2015. Caracterización microbiológica en miel de *Apis mellifera* y *Tetragonisca angustula* [Pregrado]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Bacteriología y Laboratorio Clínico. 3 p; [consultado el 29 de ago. de 2021]. <https://cutt.ly/QEiQ16D>.
- Almasaudi S. 2021. The antibacterial activities of honey. Saudi Journal of Biological Sciences. 28(4):2188–2196. eng. doi:10.1016/j.sjbs.2020.10.017.
- Alshammari J, Dhowlaghar N, Xie Y, Xu J, Tang J, Sablani S, Zhu M-J. 2021. Survival of *Salmonella* and *Enterococcus faecium* in high fructose corn syrup and honey at room temperature (22 °C). Food Control. 123:107765. doi:10.1016/j.foodcont.2020.107765.
- Álvarez Lara O. 2011. Influencia del color en las preferencias de los consumidores. Revista Observatorio Calasanz; [consultado el 13 de sep. de 2021]. 2(4):228–246. <https://core.ac.uk/download/6348451.pdf>.
- Anacleto DA, Souza BA, Marchini LC, Moreti AC. 2009. Composição de amostras de mel de abelha Jataí *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811). Ciência e Tecnologia de Alimentos; [consultado el 26 de ago. de 2021]. 29(3):535–541. doi:10.1590/S0101-20612009000300013.
- Anderson KE, Sheehan TH, Mott BM, Maes P, Snyder L, Schwan MR, Walton A, Jones BM, Corby-Harris V. 2013. Microbial ecology of the hive and pollination landscape: bacterial associates from floral nectar, the alimentary tract and stored food of honey bees (*Apis mellifera*). PLoS One. 8(12):1-16. eng. doi:10.1371/journal.pone.0083125.
- Arrabal MV, Ciappini MC. 2000. Prueba de aceptabilidad en miel. Invenio; [consultado el 8 de sep. de 2021]. 3(4-5):141–147. <https://cutt.ly/4EiWt5r>.
- Badui Dergal S. 2006. Leche. En: Quintanar Duarte E, editor. Química de los alimentos. 4ª ed. México: Pearson Education. p. 603–633 ; [consultado el 2 de sep. de 2021]. http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Libro-Badui2006_26571.pdf.

- Barbosa Cánovas GV, Fontana AJ, Schmidt SJ, Labuza TP, editores. 2020. Water activity in foods: Fundamentals and applications. 2ª ed. Chicago, USA: Wiley. 615 p. ISBN: 9781118768310.
- Beauchamp GK. 2016. Why do we like sweet taste: A bitter tale? *Physiol Behav.* 164(Pt B):432–437. eng. doi:10.1016/j.physbeh.2016.05.007.
- Bicudo L, Monika Barth O, Dietemann V, Eyer M, Da Freitas AS, Martel AC, Marcazzan GL, Marchese CM, Mucignat Caretta C, Pascual Maté A, *et al.* 2020. Standard methods for *Apis mellifera* honey research. *Journal of Apicultural Research.* 59(3):1–62. doi:10.1080/00218839.2020.1738135.
- Boyd RH. 2020. Acid an base. Access Science. doi:10.1036/1097-8542.004400.
- Carrizo Villoldo AE, Carrizo CB, Benítez Ahrendts MR, Carrillo L. 2020. Levaduras aisladas de mieles como antagonistas de mohos patógenos de cultivos. *Revista de la Facultad de Agronomía.* 119(2). doi:10.24215/16699513e054.
- Chirife J, Zamora MC, Motto A. 2006. The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. *Journal of Food Engineering.* 72(3):287–292. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877405000129>. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.12.009.
- Ciappini MC. 2005. El análisis sensorial de la miel. Argentina: Universidad del Centro Educativo Latinoamericano Rosario; [consultado el 14 de sep. de 2021]. <https://universidadagricola.com/el-analisis-sensorial-de-la-miel/>.
- Clayton K, Brush D, Keener K. 2012. Emprendimientos alimentarios: Métodos para la conservación de alimentos [FS-15-S-W E]. EE.UU.: Purdue University, Departament of Food Science. 6 p. Purdue Extension; [consultado el 6 de feb. de 2021]. <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/FS/FS-15-S-W.pdf>.
- Cocón Marroquin HA. 2020. Caracterización microbiológica y química de una bebida funcional con base de lactosuero, extracto de mango (*Mangifera indica L.*), avena (*Avena sativa L.*) y clara de huevo liofilizada [Tesis pregrado]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 29 p; [consultado el 1 de sep. de 2021]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6940/1/AGI-2020-T015.pdf>.
- [CODEX] Codex Alimentarius. 1981. Norma para la miel: CXS 12-1981. 1987, 2001. [sin lugar]: [sin editorial]. 1981; [actualizado 1981; consultado el 7 de sep. de 2021]. <https://cutt.ly/JWlbS3w>.
- [CONACYT] Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. 2008. Miel de abeja. Especificaciones (segunda actualización). 2ª ed. El Salvador: CONACYT. 12 p. (vol. 67.180) (67.19.01:08). 2008; [actualizado 2008; consultado el 20 de sep. de 2021]. <https://cutt.ly/6E5rDMh>.
- [CONICET] Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. 2018. Estándares de calidad microbiológico y físico-químico en miel de abejas nativas sin aguijón (ANSA).

- Argentina; [consultado el 28 de oct. de 2020]. <https://rsa.conicet.gov.ar/wp-content/uploads/2018/06/INFORME-RSA-Miel-de-abejas-nativas-sin-aguijon.pdf>.
- Conley CA. 2020. Aerobic Mesophilic Bacterial Spores. En: Gargaud M, Irvine WM, Amils R, Cleaves HJ, Pinti D, Cernicharo Quintanilla J, Viso M, editores. *Encyclopedia of Astrobiology*. Berlin, Heidelberg: Springer. p. 1.
- Correa Mosquera AR. 2015. Evaluación de indicadores de deterioro de miel de diferentes especies de abejas. [Tesis]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. 140 p; [consultado el 30 de oct. de 2020]. <http://bdigital.unal.edu.co/52942/1/1117511405.pdf>.
- Crane E, Kirk Visscher P. 2009. Honey. En: Resh VH, Cardé RT, editores. *Encyclopedia of insects*. 2ª ed. London: Academic. p. 459–461 ; [consultado el 11 de sep. de 2021].
- Dardón MJ, Enríquez E. 2008. Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (*Meliponini*) de Guatemala. *Interciencia*; [consultado el 26 de ago. de 2021]. 33(12):916–922. <https://www.redalyc.org/pdf/339/33913809.pdf>.
- Deák T. 2013. Food Technologies: Pasteurization. En: Motarjemi Y, Todd E, Moy GG, editores. *Encyclopedia of Food Safety*. 1ª ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Academic Press. p. 219–224.
- Denis C, Cadot P, Leguerinel I, Thuault D, Sohier D. 2006. Heat resistance of coliform species isolated from cooked ham, snail flesh, and 'bouchées à la reine'. *Lett Appl Microbiol*. 42(2):160–164. eng. doi:10.1111/j.1472-765X.2005.01838.x.
- Ekici G, Dümen E. 2019. *Escherichia coli* and Food Safety. En: Erjavec MS, editor. *The Universe of Escherichia coli*. London, United Kingdom: IntechOpen ; [consultado el 11 de sep. de 2021]. <http://doi.org/10.5772/intechopen.82375>.
- Eshete Y, Eshete T. 2019. A Review on the Effect of Processing Temperature and Time duration on Commercial Honey Quality. *Madridge Journal of Food Technology*; [consultado el 14 de sep. de 2021]. 4(1):158–162. doi:10.18689/mjft-1000124.
- Feng P, Weagant SD, Grant MA, Burkhardt W. 1995. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. En: Food and Drug Administration, editor. *Bacteriological Analytical Manual*. 8ª ed. [sin lugar]: AOAC International ; [consultado el 21 de oct. de 2020]. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>.
- Fernandes RT, Rosa IG, Conti-Silva AC. 2018. Microbiological and physical-chemical characteristics of honeys from the bee *Melipona fasciculata* produced in two regions of Brazil. *Ciência Rural*. 48(5):1–8. doi:10.1590/0103-8478cr20180025.
- Fernández VM. 2011. Water Activity. En: Gargaud M, Amils R, editores. *Encyclopedia of astrobiology*. Heidelberg: Springer. p. 1763–1764 (Springer reference).

- Fernández Roblero S, Vázquez Ovando A, Grajales Conesa J, Rincón Rabanales M, Coronel Niño R. 2019. Lactic acid bacteria isolated from the Stingless bee *Scaptotrigona mexicana* and partial characterization of their probiotic activity. *Revista Bio Ciencias*; [consultado el 3 de sep. de 2021]. 7:1–17. doi:10.15741/revbio.07.e979.
- Fuenmayor CA, Zuluaga Domínguez CM, Díaz Moreno AC, Quicazán MC. 2012. 'Miel de Angelita': nutritional composition and physicochemical properties of *Tetragonisca angustula* honey. *Interciencia*; [consultado el 10 de jul. de 2021]. 37(2):142–147. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33922717011>.
- Goepfert JM, Iskander IK, Amundson CH. 1970. Relation of the heat resistance of salmonellae to the water activity of the environment. *Appl Microbiol.* 19(3):429–433. eng. doi:10.1128/am.19.3.429-433.1970.
- Gökmen V, Morales FJ. 2013. Processing Contaminants: Hydroxymethylfurfural. En: Motarjemi Y, Todd E, Moy GG, editores. *Encyclopedia of Food Safety*. 1ª ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Academic Press. p. 404–408 ; [consultado el 2 de sep. de 2021]. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00209-2>.
- González Acereto JA. 2012. La importancia de la meliponicultura en México, con énfasis en la Península de Yucatán. *Bioagrociencias*; [consultado el 15 de oct. de 2020]. 5(1):34–41. <https://cutt.ly/KWowquZ>.
- Grabowski NT, Klein G. 2017. Microbiology and foodborne pathogens in honey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 57(9):1852–1862. eng. doi:10.1080/10408398.2015.1029041.
- Guo W, Liu Y, Zhu X, Wang S. 2011. Temperature-dependent dielectric properties of honey associated with dielectric heating. *Journal of Food Engineering*. 102(3):209–216. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.08.016.
- Halkman HB, Halkman AK. 2014. Indicator Organisms. En: Pradip Patel CB, editor. *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2ª ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Academic Press. p. 358–363. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00396-7>.
- Harvey AH, Friend DG. 2004. Physical properties of water. En: Palmer DA, Fernández-Prini RJ, Harvey AH, editores. *Aqueous systems at elevated temperatures and pressures: Physical chemistry in water, steam and hydrothermal solutions*. 1ª ed. Amsterdam, Oxford: Elsevier Academic Press. p. 1–27 ; [consultado el 21 de sep. de 2021]. <https://cutt.ly/oEgP8Mi>.
- Hernández C, Correa A, Quicazán M. 2015. Effect of the Tyndallization on the Quality of Colombian Honeys. *Chemical Engineering Transactions*. 43:19–24. doi:10.3303/CET1543004.
- Huicochea Gómez L. 2011. Dulce manjar: sabores, saberes y rituales curativos en torno a la miel de las meliponas. *Ecofronteras*; [consultado el 10 de jul. de 2021]. (42):22–25. <https://revistas.ecosur.mx/ecofronteras/index.php/eco/article/view/721>.

- Kim J, Enache E, Hayman M. 2015. Halophilic and Osmophilic Microorganisms. En: Salfinger Y, Tortorello ML, editores. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington D.C.: American Public Health Association. <https://doi.org/10.2105/MBEF.0222.022>.
- Kiš M, Furmeg S, Jaki Tkalec V, Zadavec M, Denžić Lugomer M, Končurat A, BeniĆ M, Pavliček D. 2018. Characterisation of Croatian honey by physicochemical and microbiological parameters with mold identification. *Journal of Food Safety*. 38(5). doi:10.1111/jfs.12492.
- Kiš M, Furmeg S, Tkalec VJ, Zadavec M, BeniĆ M, Sokolović J, Majnarić D. 2019. Identification of moulds from Croatian honey. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*. 11(6):571–576. doi:10.3920/QAS2019.1546.
- Lagos Gomez HB. 2020. Efecto de la pasteurización en miel de abeja (*Apis mellifera*) y miel de abeja melipona (*Tetragonisca angustula*) [Tesis]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 25 p; [consultado el 25 de oct. de 2021]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6900/1/AGI-2020-T022.pdf>.
- Li D, Liu S. 2018. Water Quality Monitoring in Aquaculture. En: Li D, Liu S, editores. Water quality monitoring and management: Basis, technology and case studies / Daoliang Li, Shuangyin Liu. London: Academic Press. p. 303–328.
- Marquele Oliveira F, Carrão DB, Souza RO de, Baptista NU, Nascimento AP, Torres EC, Moreno GdP, Buszinski AFM, Miguel FG, Cuba GL, *et al.* 2017. Fundamentals of Brazilian Honey Analysis: An Overview. En: Toledo VAA de, Dechechi Chambó E, editores. Honey Analysis. Maringá, Brazil: InTech. p. 139–169 ; [consultado el 7 de sep. de 2021]. <https://doi.org/10.5772/67279>.
- Martínez Peralta C. 2018. Diversidad e importancia de las abejas silvestres: mucho más que miel y abejorros. *Agro Productividad*. 11(12):103–108. doi:10.32854/agrop.v11i12.1315.
- Maturin L, Peeler JT. 1995. Aerobic Plate Count. En: Food and Drug Administration, editor. Bacteriological Analytical Manual. 8ª ed. [sin lugar]: AOAC International ; [consultado el 10 de jul. de 2021]. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-3-aerobic-plate-count>.
- Mendieta Carrillo JR. 2002. Comparación de la composición química de la miel de tres especies de abejas (*Apis mellifera*, *Tetragonisca angustula* y *Melipona beecheii*) de El Paraíso, Honduras [Tesis]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano; [consultado el 21 de sep. de 2021]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1546/1/AGI-2002-T028.pdf>.
- Meo SA, Al-Asiri SA, Mahesar AL, Ansari MJ. 2017. Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 24(5):975–978. eng. doi:10.1016/j.sjbs.2016.12.010.
- Migdał W, Owczarczyk HB, Kędzia B, Hołderna-Kędzia E, Madajczyk D. 2000. Microbiological decontamination of natural honey by irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*. 57(3-6):285–288. doi:10.1016/S0969-806X(99)00470-3.

- Norhayati H, Izzreen I, Tan Hooi P. 2019. Effects of pasteurization and different concentrations of xanthan gum on honey beverage. *Food Research*. 3(4):325–332. doi:10.26656/fr.2017.3(4).142.
- [OIRSA] Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria. 2007. Manual de buenas prácticas de manufactura para plantas exportadoras de miel de abejas. Honduras. 34 p; [consultado el 21 de sep. de 2021]. <https://cenida.una.edu.ni/relectronicos/REE21O68.pdf>.
- [OSU] Oregon State University. 2014. Food safety and preservation: home pasteurization of raw milk. OSU Master Food Preserver Program. Oregon, United States. 1 p; [consultado el 2 de nov. de 2020]. <https://extension.oregonstate.edu/sites/default/files/documents/8836/sp50932homepasteurizationofrawmilk.pdf>.
- Pérez Reyes ME, Sosa Morales ME. 2013. Mecanismos de transferencia de calor que ocurren en tratamientos térmicos de alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*; [consultado el 27 de oct. de 2020]. 7(1):37–47. <https://cutt.ly/pWowGZb>.
- Pucciarelli AB, Schapovaloff ME, Kummritz S, Seňuk IA, Brumovsky LA, Dallagnol AM. 2014. Microbiological and physicochemical analysis of yateí (*Tetragonisca angustula*) honey for assessing quality standards and commercialization. *Revista Argentina de Microbiología*. 46(4):325–332. doi:10.1016/S0325-7541(14)70091-4.
- Quintas M, Guimarães C, Baylina J, Brandão TR, Silva CL. 2007. Multiresponse modelling of the caramelisation reaction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 8(2):306–315. doi:10.1016/j.ifset.2007.02.002.
- Ramírez Miranda M, Anaya Sosa I, Cruz y Victoria MT, Vizcarra Mendoza MG. 2014. Determinación de las isoterms de sorción y las propiedades termodinámicas de harina de maíznixtamalizada. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*; [consultado el 27 de ago. de 2021]. 13(1):165–175. <https://www.redalyc.org/pdf/620/62031166013.pdf>.
- Rathee R, Rajain P. 2019. Role Colour Plays in Influencing Consumer Behaviour. *International Research Journal of Business Studies*; [consultado el 29 de ago. de 2021]. 12(3):209–222. doi:10.21632/irjbs.12.3.209-222.
- Ribeiro GP, Villas-Bôas JK, Spinoso WA, Prudencio SH. 2018. Influence of freezing, pasteurization and maturation on Tiúba honey quality. *LWT*; [consultado el 9 de sep. de 2021]. 90:607–612. doi:10.1016/j.lwt.2017.12.072.
- Rybak Chmielewska H. 2007. Changes in the carbohydrate composition of honey undergoing during storage. *Journal of Apicultural Science*; [consultado el 21 de sep. de 2021]. 51(1):39–48. <http://www.jas.org.pl/Changes-in-the-carbohydrate-composition-of-honey-undergoing-during-storage,0,102.html>.
- Schiraldi C, Rosa M de. 2020. Mesophilic Organisms. En: Drioli E, Giorno L, editores. *Encyclopedia of Membranes*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. p. 1–2.

- [SENASICA Y CGG] Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria y Coordinación General de Ganadería. 2015. Manual de Buenas Practicas de Producción de miel. México: Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria y Coordinación General de Ganadería; [consultado el 10 de jul. de 2021]. https://www.mieldemalaga.com/data/manual_manufactura_miel.mex.pdf.
- Sereia MJ, Alves EM, Toledo VAA de, Marchini LC, Faquinello P, Sekine ES, Wielewski P. 2011. Microbial flora in organic honey samples of africanized honeybees from Parana river islands. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 31(2):462–466. doi:10.1590/S0101-20612011000200028.
- Silva MS, Rabadzhiev Y, Eller MR, Iliev I, Ivanova I, Santana WC. 2017. Microorganisms in Honey. En: Toledo VAA de, Dechechi Chambó E, editores. *Honey Analysis*. Maringá, Brazil: InTech. p. 233–257 ; [consultado el 2 de sep. de 2021]. <https://doi.org/10.5772/67262>.
- Snowdon JA, Cliver DO. 1996. Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology*. 31(1-3):1–26. doi:10.1016/0168-1605(96)00970-1.
- Souza BA, Roubik DW, Barth OM, Heard TA, Enríquez E, Carvalho C, Villas Bôas J, Marchini L, Locatelli J, Persano Oddo L, *et al.* 2006. Composition of stingless bee honey: setting quality standards. *Interciencia*; [consultado el 27 de ago. de 2021]. 31(12):867–875. <https://www.redalyc.org/pdf/339/33901206.pdf>.
- Stone H, Bleibaum RN, Thomas HA. 2012. Affective Testing. En: Stone H, Bleibaum R, Thomas H, editores. *Sensory Evaluation Practices*. 4ª ed. [sin lugar]: Elsevier Academic Press. p. 291–325 ; [consultado el 3 de sep. de 2021]. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382086-0.00007-8>.
- Syamaladevi RM, Tang J, Villa-Rojas R, Sablani S, Carter B, Campbell G. 2016. Influence of Water Activity on Thermal Resistance of Microorganisms in Low-Moisture Foods: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 15(2):353–370. eng. doi:10.1111/1541-4337.12190.
- Tapia MS, Alzamora SM, Chirife J. 2020. Effects of water activity (A_w) on microbial stability as a hurdle in food preservation. En: Barbosa Cánovas GV, Fontana AJ, Schmidt SJ, Labuza TP, editores. *Water activity in foods: Fundamentals and applications*. 2ª ed. Chicago, USA: Wiley. p. 323–355 ; [consultado el 1 de sep. de 2019]. <https://doi.org/10.1002/9781118765982.ch14>.
- Tosi EA, Ré E, Lucero H, Bulacio L. 2004. Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *LWT - Food Science and Technology*; [consultado el 2 de sep. de 2021]. 37(6):669–678. doi:10.1016/j.lwt.2004.02.005.
- Tournas V, Stack, ME, Mislivec PB, Koch HA, Bandler R. 1995. Yeasts, Molds and Mycotoxins. En: Food and Drug Administration, editor. *Bacteriological Analytical Manual*. 8ª ed. [sin lugar]: AOAC International ; [consultado el 21 de oct. de 2020]. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-18-yeasts-molds-and-mycotoxins>.

- Ulloa, Mandragon P, Rodríguez R, Reséntiz J, Ulloa PR. 2010. La miel de abeja y su importancia. *Revista Fuente*; [consultado el 4 de sep. de 2021]. 2(4):11–18. <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/01-04/2.pdf>.
- Vidal AC, Saran Netto A. 2018. *Obtenção e processamento do leite e derivados*. São Paulo, Brazil: Universidade de São Paulo. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. ISBN: 9788566404173.
- Visquert Fas M. 2015. *Influencia de las condiciones térmicas en la calidad de la miel* [Tesis Doctoral]. Valencia, España: Universitat Politècnica de Valencia. 194 p; [consultado el 21 de oct. de 2020]. <https://cutt.ly/KWOW5ih>.
- Vit P, González I, Sorroza L, R.M. Pedro S. 2016. Caracterización físicoquímica de miel de angelita *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) producida en Esmeraldas, Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI*; [consultado el 26 de ago. de 2021]. 9(20):77–84. <https://www.redalyc.org/pdf/5826/582663826011.pdf>.
- Vorst MJ, Jamal W, Rotimi VO, Moosa A. 2006. Infant botulism due to consumption of contaminated commercially prepared honey. First report from the Arabian Gulf States. *Med Princ Pract*. 15(6):456–458. eng. doi:10.1159/000095494.
- Zarei M, Fazlara A, Tulabifard N. 2019. Effect of thermal treatment on physicochemical and antioxidant properties of honey. *Heliyon*; [consultado el 2 de sep. de 2021]. 5(6):1-6. eng. doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01894.

Anexos

Anexo A

Formato hoja de evaluación sensorial.

Fecha: _____

Instrucciones:

Coloque el código de muestra y realice la evaluación de izquierda a derecha. Indique el grado en el que le gusta o disgusta cada atributo escribiendo el número correspondiente en la columna del código de la muestra. Guíese en la tabla de puntaje adjunta. Limpie su paladar comiendo un pedazo de galleta y tome agua antes y después de evaluar cada muestra.

PUNTAJE	DESCRIPCIÓN
1	Me disgusta extremadamente
2	Me disgusta mucho
3	Me disgusta moderadamente
4	Me disgusta poco
5	Ni me gusta/ Ni me disgusta
6	Me gusta poco
7	Me gusta moderadamente
8	Me gusta mucho
9	Me gusta extremadamente

ATRIBUTO	CÓDIGO:	CÓDIGO:	CÓDIGO:
Apariencia			
Color			
Olor			
Sabor			
Dulzura			
Consistencia			
Aceptación general			

Comentarios:

¡Gracias por su participación!

Anexo B

Probabilidades estadísticas de los análisis químicos y microbiológicos.

Variable	Tratamiento	Modelo
pH	0.8711	0.0477
Aw	0.6419	0.8949
Sólidos solubles	0.0110	0.0286
Coliformes totales	0.0001	0.0004
Mesófilos aerobios	0.9268	0.5359
Hongos y levaduras	0.0025	0.0072

Anexo C

Correlación entre atributos sensoriales después de la pasteurización de la miel.

	Apariencia	Color	Sabor	Dulzura	Viscosidad
Apariencia	1.00000	0.82328 <.0001	0.38661 <.0001	0.37495 <.0001	0.39555 <.0001
Color	0.82328 <.0001	1.00000	0.36831 <.0001	0.37003 <.0001	0.45712 <.0001
Sabor	0.38661 <.0001	0.36831 <.0001	1.00000	0.70678 <.0001	0.46620 <.0001
Dulzura	0.37495 <.0001	0.37003 <.0001	0.70678 <.0001	1.00000	0.48557 <.0001
Viscosidad	0.39555 <.0001	0.45712 <.0001	0.46620 <.0001	0.48557 <.0001	1.00000

Anexo D

Correlación entre atributos sensoriales con aceptación general después de la pasteurización de la miel.

	AGeneral
Apariencia	0.57481 <.0001
Color	0.59763 <.0001
Sabor	0.69829 <.0001
Dulzura	0.70572 <.0001
Viscosidad	0.58999 <.0001