

**Caracterización física, química y
microbiológica de la miel de *Melipona
beecheii***

Gabriela Elisa Rodríguez Suazo

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Octubre, 2014

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Caracterización física, química y
microbiológica de la miel de *Melipona
beecheii***

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Gabriela Elisa Rodríguez Suazo

Zamorano, Honduras

Octubre, 2014

Caracterización física, química y microbiológica de la miel de *Melipona beecheii*

Presentado por:

Gabriela Elisa Rodríguez Suazo

Aprobado:

Blanca Valladares, M.Sc.
Asesora Principal

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Director
Departamento de Agroindustria
Alimentaria

Mayra Márquez, Ph.D.
Asesora

Raúl H. Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Caracterización física, química y microbiológica de la miel de *Melipona beecheii*

Gabriela Elisa Rodríguez Suazo

Resumen: En Honduras la apicultura está dominada por la abeja *Apis mellifera* y la meliponicultura o crianza de abejas sin aguijón se produce en menor proporción. La abeja *Melipona beecheii* es una especie nativa sin aguijón que habita en cavidades disponibles como agujeros en árboles o muros. La alta tasa de deforestación está reduciendo el hábitat de esta especie, por ellos los meliponicultores buscan opciones tecnificadas para recuperar la crianza de abejas sin aguijón y la producción de miel. El objetivo de este estudio fue comparar las características físicas, químicas y microbiológicas de la miel de *Melipona beecheii* con la miel de abeja de *Apis mellifera*. El diseño experimental utilizado fue un Diseño Completo al Azar (DCA), evaluando dos modelos de producción (en caja y en tronco) evaluándolos con los parámetros de calidad, establecidos para la miel de *Apis mellifera*. Se realizaron análisis físicos (viscosidad y color), químicos (pH, Aw y humedad) y análisis microbiológicos (aerobios mesófilos, coliformes totales y hongos y levaduras). Las mieles de abeja de *Apis mellifera* y *Melipona beecheii* presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en los análisis físicos y químicos, siendo la miel de melipona más clara, con mayor humedad y menor viscosidad. Hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) en los modelos de producción de meliponas en el recuento de mesófilos aerobios. No hubo diferencias estadísticas ($P > 0.05$) en el recuento de hongos y levaduras. Hubo ausencia de coliformes totales en todos los tratamientos. Se recomienda establecer parámetros de calidad específicos para mieles de abeja sin aguijón.

Palabras claves: Aerobios mesófilos, coliformes, hongos y levaduras.

In Honduras beekeeping is dominated by the honeybee *Apis mellifera* and stingless beekeeping is produced in a lesser extent. *Melipona beecheii* bee is a native stingless species that lives in trees or walls. The high rate of deforestation is reducing the habitat of this species; that's why experts in this area are including technological alternatives to recover stingless beekeeping and honey production. The aim of this study was to compare the physical, chemical and microbiological characteristics of *Melipona beecheii* honey with *Apis mellifera* honey. The experimental design was a Complete Randomized Design (CRD) evaluating two models of production (in box and trunk) with the quality parameters established for honey of *Apis mellifera*. Physical analyses (viscosity and color) and chemical analysis (pH, Aw and humidity) and microbiological analysis (aerobic mesophilic, coliforms, moulds and yeasts) were performed. The honey of *Apis mellifera* and *Melipona beecheii* differed statistically ($P < 0.05$) in the physical and chemical analysis, being melipona honey clearer, with higher humidity and lower viscosity. There was statistical difference ($P < 0.05$) in the production model of meliponas in aerobic mesophilic count. There were no statistical differences ($P > 0.05$) in the count of yeasts and molds. There was absence of total coliforms in all treatments. We recommend setting specific quality parameters for stingless bee honey.

Keywords: Aerobic mesophilic, coliforms, moulds and yeasts.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4. CONCLUSIONES	14
5. RECOMENDACIONES	15
6. LITERATURA CITADA.....	16
7. ANEXOS	20

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Parámetros Microbiológicos de la miel de abejas para consumo directo.....	6
2. Descripción de Tratamientos.....	6
3. Resultado de análisis físico: Viscosidad.....	7
4. Resultado de análisis físico: Actividad de agua.....	8
5. Resultado de análisis físico: Humedad.....	9
6. Resultado de análisis físico. Color.....	10
7. Resultado químico: pH.....	10
8. Resultados Microbiológicos: Aerobios Mesófilos (Log UFC/g).....	12
9. Resultados Microbiológicos: Hongos y Levaduras (Log UFC/g).....	13

Figuras	Página
1. Flujo de proceso para elaboración de colmena modelo UTOB.....	3
2. Flujo de proceso para elaboración de colmena en tronco hueco.....	4

Anexos	Página
1. Correlaciones entre las variables de los tratamientos.....	20
2. Caja racional utilizada por los meliponicultores en el municipio de Trojes.....	21
3. Tronco hueco listo para cosecha.....	21
4. Caja racional lista para cosecha.....	21
5. Criterios microbiológicos de la miel.....	22

1. INTRODUCCIÓN

La meliponicultura es una actividad conocida desde la época precolombina. Las poblaciones indígenas como México y Centroamérica, criaron y explotaron las abejas sin aguijón para producción de miel y cera (Nates-Parra *et al.* 2009). En Honduras se desconoce o hay poca información sobre la meliponicultura.

La meliponicultura se basa en la cría y manejo de abejas sin aguijón (Enríquez *et al.* 2004), dichas abejas son especies nativas que se pueden encontrar en los trópicos y subtropicos del mundo desde la 30° latitud norte hasta la 30° latitud sur. Estudios demuestran que existen alrededor de 300 especies de abeja sin aguijón, distribuidas desde México hasta el norte de Argentina (Manrique 1995). Las meliponas hacen sus nidos en cavidades que encuentren disponibles como árboles huecos, muros o nidos abandonados. Las abejas sin aguijón se adaptan a las condiciones locales y es por eso que en cada región existen diferentes especies con potencial comercial (Rosso y Nates-Parra 2005).

Según Huicochea (2011), existen estudios relacionados con las propiedades curativas de la miel de meliponas. Algunas personas la utilizan para usos terapéuticos o tratamientos de cataratas oculares, carnosidad, problemas hepáticos, conjuntivitis, heridas, úlceras oculares, manchas en el cutis a causa de gestación, infecciones respiratorias y asma. El efecto curativo y medicinal de la miel de melipona va destinada a un rango amplio de enfermedades o padecimientos y es importante mencionar que las propiedades curativas de las mieles sin aguijón están arraigadas a las creencias y saberes de la gente (Huicochea 2011).

En otros estudios según Zamora y Arias 2011, la miel de abejas sin aguijón posee un efecto inhibitorio de bacterias. Las abejas meliponas y melíferas tienen similar efecto inhibitorio contra *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Pseudomonas aeruginosa*. La miel de abejas sin aguijón contiene una mayor capacidad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*, en comparación con la miel de abejas con aguijón. La mayoría de estos microorganismos son considerados como los principales patógenos transmitidos por los alimentos.

En la actualidad existen meliponicultores de áreas rurales que producen colmenas de *Melipona beecheii*, con el propósito de utilizar el producto para fines alimenticios y medicinales. Los meliponicultores reconocen la importancia económica que tiene la comercialización de esta miel (Dardón 2005). En Honduras la miel de *M. beecheii* se comercializa con valor triple que la miel de abeja de *Apis mellifera*.

La cría tecnificada de estas especies es rentable y se han propuesto diversos modelos de colmenas racionales que se adaptan a sus nidos. (Gutierrez *et al.* 2008). De acuerdo a la investigación de López (2002) existen dos diseños de modelos de colmenas con el fin de preservar estos exclusivos polinizadores del trópico, aprovechar los numerosos beneficios de la miel y poder establecer esta actividad con fines comerciales en zonas rurales.

Los modelos son conocidos como MARIA y UTOB diseñados en Brasil y Trinidad y Tobago, respectivamente. El modelo MARIA consiste en tres compartimientos, contiene una cámara de cría central fija y dos cámaras para el almacenamiento de miel y polen. Este diseño facilita la cosecha y evita el contacto con la cámara de cría. El modelo UTOB es sencillo y consiste en una caja racional con dos compartimientos, uno para la cámara de cría y otro para la cámara de miel y polen (López 2002).

Existen algunos meliponicultores tradicionales que prefieren producir miel de meliponas en el hábitat natural de estas abejas. Para esta técnica se necesita talar troncos para obtener una colonia y luego sellar las orillas con tierra o pedazos de madera, lo anterior pone en riesgo la inocuidad de la miel por cosechar.

Para este estudio se utilizó miel producida en un modelo UTOB (cajas de dos compartimientos) producida en la comunidad de Río Arriba y miel producida en troncos huecos de árboles *Grevillea* y *Liquidámbar* producida en la comunidad de Las Delicias, ambas comunidades pertenecen al departamento de El Paraíso, Honduras. Luego se realizó una caracterización en la que se incluyeron análisis físicos, químicos y microbiológicos de la miel, con la finalidad de dar a conocer más sobre esta miel e impulsar más el desarrollo de la meliponicultura en nuestro país. Además lograr incentivar a la realización de estándares de calidad para este tipo de miel y así facilitar su comercialización en el exterior.

Los objetivos del siguiente estudio fueron:

Comparar las características físicas, químicas y microbiológicas de la miel de *Melipona beecheii* con la miel de *Apis mellifera* de Zamorano.

Comparar los resultados microbiológicos de la miel de melipona con los parámetros legales establecidos por la Reglamento técnico para miel de abejas de SENASA de Costa Rica y con la norma mexicana de alimentos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio. Las mieles de abejas sin aguijón evaluadas fueron recolectadas en las aldeas de Río Arriba y Las Delicias del municipio de Trojes, departamento de El Paraíso, Honduras. Los análisis físicos-químicos se realizaron en el laboratorio de análisis de alimentos de Zamorano (LAAZ) y los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano (LMAZ). Los laboratorios están ubicados dentro de la Escuela Agrícola Panamericana situada en el valle del Río Yeguaré, ubicado a 32 km al este de Tegucigalpa, Francisco Morazán, Honduras.

Sistemas de producción con abejas meliponas. En este estudio se trabajó con dos sistemas de producción de miel con abejas meliponas y se detallan a continuación:

Colonias en caja UTOB (método tecnificado). La colmena moderna de cualquier modelo de caja de madera, es la forma más práctica de desarrollar colonias de abejas sin aguijón (ver figura 1). El apicultor debe tener especial cuidado con el espacio interior de la colmena, pues no debe ser menor a las exigencias biológicas de las abejas, porque de lo contrario detendría el crecimiento del nido y este se mantendría subdesarrollado por ende el productor no obtendrá una razonable producción de miel. Por el contrario cajas muy grandes, excesivas en tamaño en relación al nido de cría y área de reservas de la colonia que será alojada, no permiten una termorregulación ideal, y el nido de cría se verá seriamente afectado provocando enfriamiento de los panales de cría (Manzo 2012).



Figura 1. Flujo de proceso para elaboración de colmena modelo UTOB.

Colonias en tronco (método tradicional). Los meliponicultores tradicionales continúan empleando la técnica de talar árboles para obtener una colonia de meliponas (ver figura 2). El proceso tradicional consiste en cortar troncos donde colocan colonias de abejas y luego las sellan los extremos de tronco con lodo. Algunas desventajas al utilizar troncos huecos son: poca visibilidad interna, evita una revisión adecuada de plagas y otro inconveniente es a la hora de la cosecha existe el riesgo de dañar el panal (López 2002).

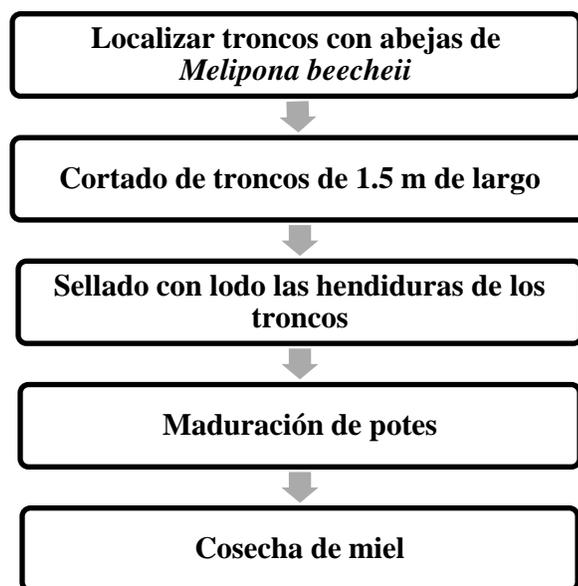


Figura 2. Flujo de proceso para elaboración de colmena en tronco hueco.

Las muestras de miel de *Melipona beecheii* de ambos modelos fueron cosechadas en noviembre del 2013, abril 2014 y mayo 2014. La extracción de la miel producida en cajas UTOB se realizó perforando los potes con miel con la ayuda de una jeringa, mientras que la miel de colmena de tronco fue extraída exprimiendo los potes de miel manualmente. Ambas mieles se filtraron con una manta de seda para extraer todo el material extraño. La miel de *Apis mellifera* fue donada por los apiarios de Zamorano y se extrajo la miel con el desoperculado y centrifugado de panales maduros. Los tres tratamientos de mieles fueron analizadas sin ningún tratamiento térmico. Todas las muestras de miel se almacenaron en recipientes limpios y se mantuvieron bajo techo a temperatura ambiente para evitar la exposición lumínica.

Las mieles que se obtuvieron de ambos sistemas de producción fueron evaluadas de la siguiente manera:

Humedad. La humedad se determinó con el Refractómetro digital de “Pocket” PAL-22S para miel. Este instrumento puede medir en porcentaje el contenido de humedad de la miel. El rango de medida es 12.0 a 30.0% de humedad.

Color. La medición del color se realizó con el Colorflex HunterLab®. El análisis muestra resultados para valores de $L^*a^*b^*$, donde L^* representa la luminosidad del color, los valores están comprendidos entre 0 a 100 siendo 0 negro y 100 blanco. El valor a^* , va desde (0 a 60) para colores rojos y (-60 a - 1) para colores verdes. Por último, b^* representa valores desde (-60 a 1) para colores azules y (1 a 60) para colores amarillos.

Actividad de Agua. Se determinó la actividad de agua en el Aqualab (Decagon Devices), Modelo: Serie 3Te por el método (AOAC 978.18). Este aparato cuenta con dos sensores, un sensor de temperatura de infrarrojo y un sensor de punto de rocío refrigerado por espejos. Se utilizaron 7 ml de miel por muestra.

Viscosidad. La viscosidad se midió con el Reómetro de Brookfield DV-III Ultra V6.1 LV utilizando el spindle LV3 para muestras más viscosas y LV4 para muestras menos viscosas. La temperatura de la miel estaba 25.5 ± 0.5 °C. Los datos fueron obtenidos en unidades de Pascal-segundo (Pa·s).

Medición de pH. El pH se midió con el medidor de pH Orion 3 Star. Se calibró antes de utilizarlo con una solución de cloruro de potasio 4 molar.

Análisis Microbiológicos. La miel de abejas por ser un alimento de consumo directo por las personas debe estar exenta de microorganismos patógenos y debe cumplir con los límites máximos permitidos para recuento de aerobios mesófilos, coliformes totales y hongos y levaduras. También debido a que esta miel de meliponas se utiliza en tratamientos antiinflamatorios, cicatrizantes y antimicrobianos, es necesario considerar la carga microbiológica para que no represente un riesgo sobre heridas, úlceras y abrasiones (Zamora y Arias 2011).

Es por eso que las mieles de abeja sin aguijón fueron evaluados por dos normas: la oficial mexicana de alimentos y por los parámetros legales establecidos por la Reglamenteo técnico para miel de abejas de SENASA, Costa Rica. Estos tienen como objetivo garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos y bebidas destinados al consumo. Se utilizaron los métodos descritos por el Manual Analítico Bacteriológico (BAM) de la FDA para el análisis de aerobios mesófilos y hongos y levaduras en los capítulos 3 y 18 respectivamente. Para coliformes totales se utilizó la técnica del número más probable (NMP).

Cuadro 1. Parámetros Microbiológicos de la miel de abejas para consumo directo.

Microrganismo	Norma Costarricense*	Norma Mexicana**
Recuento Aerobios Mesófilos	<4 Log UFC/g	<3 Log UFC/g
Recuento Total Hongos y Levaduras	<2 Log UFC/g	N/A
Recuento de Hongos	N/A	<2 Log UFC/g
Recuento de Levaduras	N/A	<2 Log UFC/g
Coliformes Totales	<3 NMP/g	N/A

Fuente: * RTCR 423: 2009. Reglamento técnico para miel de abejas de SENASA

**NMX-F-036-NORMEX-2006

N/A= No aplica

Coliformes Totales. Se determinaron por la técnica de NMP, utilizando caldo lactosado e incubando una serie de 3 tubos con tres diluciones diferentes a 35°C durante 48 horas.

Hongos y Levaduras. Se determinaron por la técnica de vertido en placa. Se utilizó Agar Papa Dextrosa. Los platos Petri inoculados se guardaron a temperatura ambiente por 5 días.

Aerobios mesófilos. Se determinaron por la técnica de siembra de vertido en placa. Se utilizó Agar Cuenta Estándar. Los platos Petri inoculados se incubaron 35°C por 48 horas.

Diseño Experimental. Se utilizó un Diseño Completo al Azar (DCA), con tres tratamientos, dos tratamientos con mieles de *Melipona beecheii*, una producida artesanalmente en troncos huecos y la otra producida en un método tecnificado en cajas modernas de madera. El tercer tratamiento es la miel de Zamorano de la especie *Apis Mellifera*, que sirvió de control y de comparación para el estudio.

Cuadro 2. Descripción de Tratamientos.

Tratamientos	Método de Producción	Especie de abeja
TRT 1	Caja	<i>M. beecheii</i>
TRT 2	Tronco	<i>M. beecheii</i>
TRT 3	Zamorano	<i>A. mellifera</i>

Análisis Estadístico. Se utilizó el programa analítico SAS 9.3 “Statistical Analysis System”. Para comparar las medias de cada tratamiento se utilizó la separación de media con la prueba Duncan.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Viscosidad. La viscosidad entre tratamientos mostró diferencias estadísticas ($P < 0.05$). Las mieles de *M. beecheii* reflejaron menor viscosidad que la miel de *Apis mellifera*, esto podría estar relacionado con la correlación inversa entre las variables de viscosidad, Aw y humedad ($P < 0.05$). A medida aumenta la viscosidad de la miel disminuye el contenido de Aw y humedad.

La viscosidad de la miel depende en gran medida de su contenido de agua y está por lo tanto ligado a su densidad relativa. A menor cantidad de agua, mayor es la densidad, y viscosidad. La miel de abeja sin aguijón se caracteriza por su alta fluidez debido a su alto contenido de agua, que puede ser una ventaja por tener periodos cortos de relleno y decantación al momento del envasado (Alves *et al.* 2005).

El aumento de viscosidad depende de la concentración de azúcares de levulosa y dextrosa, composición química, contenido de dextrinas, trisacáridos y proteínas que se encuentran en la miel (Tomasik 2003). En un estudio realizado por Mendieta 2002, la miel de *Apis mellifera* mostró 69.58% de azúcares reductores, al contrario, de *Melipona beecheii* que fue 63.57% de azúcares reductores, lo que indica que la miel sin aguijón tiene una menor concentración de azúcar. La humedad de la miel de melipona fue 7.2 veces más que la miel de Zamorano, el cual es probable que por tener una menor concentración de azúcares reductores contenga una menor viscosidad.

Cuadro 3. Resultado de análisis físico: Viscosidad.

Tratamiento	Viscosidad (Pa·s) \pm D.E
Sistema de producción en caja	0.373 \pm 0.164 ^a
Sistema de producción en tronco	0.323 \pm 0.153 ^a
Control	4.979 \pm 0.496 ^b
CV%	16.63

a - b Medias seguidas con letra diferente son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

D.E.= Desviación estándar.

C.V%.= Coeficiente de variación.

Actividad de agua (Aw). En el análisis de Aw se encontró diferencias estadísticas entre los tratamientos ($P < 0.05$). Los valores de agua libre de la miel de abeja melífera se encuentran entre 0.56 y 0.62, valor que impide el crecimiento de casi cualquier microorganismo con excepción de algunas levaduras y bacterias osmofílicas.

La Aw mide la magnitud de agua disponible o libre y se puede utilizar para determinar la estabilidad de la miel (Al-Mahasneh 2014). En el caso de la miel de Zamorano se encuentra dentro de este rango. La miel de meliponas presentó una mayor Aw, lo que significa que son mieles propicias a la fermentación (Cárdenas *et al.* 2008).

Según Smith 2007, sustratos alimenticios concentrados a 65 por ciento o más de sólidos solubles (azúcar) y que contiene ácidos de forma sustancial puede ser conservado a través de un tratamiento térmico relativamente leve, además la gran cantidad de sólidos permiten capturar la humedad lo suficiente para bajar la actividad de agua (Aw). El bajo valor de Aw de la miel de Zamorano se puede relacionar con el alto contenido de sólidos solubles que es arriba de 65% predominando en mayor cantidad los azúcares monosacáridos.

La diferencia en Aw podría estar relacionada con pérdida de humedad del ambiente interno a esto. Las colonias de *M. beecheii* poseen temperatura en promedio entre 30 a 31 °C, al contrario de la abeja *Apis mellifera* que poseen temperatura constante de 35 a 38 °C para que las crías se desarrollen constantemente (Mendizabal 2005). Dada esta situación se puede deducir que la miel de abeja de *Apis mellifera* tiene una mayor evaporación de agua del néctar de las meliponas, permitiendo de esta manera concentrar más el contenido de azúcar y tener un bajo contenido de agua. La diferencia de temperatura interna de la colmena podría estar relacionada con el tamaño de las abejas, siendo las melíferas de mayor tamaño en comparación con las abejas meliponas.

Cuadro 4. Resultado de análisis físico: Actividad de agua.

Tratamiento	Aw ± D. E.
Sistema de producción en caja	0.705 ± 0.03 ^a
Sistema de producción en tronco	0.705 ± 0.03 ^a
Control	0.568 ± 0.04 ^b
CV%	5.62

a - b Medias seguidas con letra diferente son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E.= Desviación estándar.

C.V%.= Coeficiente de variación.

Humedad. El contenido de humedad en mieles debe ser menor a 20% para todas las mieles, con excepción de la de brezo y la de trébol, ya que un contenido alto de humedad acorta la durabilidad del producto antes de la venta, a causa del posible aumento de microorganismos y mayor posibilidad de fermentación (Codex 2001). En este estudio, la humedad de la miel de *M. beecheii* fue mayor que la de Zamorano y dicho porcentaje supera lo establecido en el Codex de la miel (P<0.05).

Cuadro 5. Resultado de análisis físico: Humedad.

Tratamiento	% Humedad D. E.
Sistema de producción en caja	26.76 ± 1.56 ^a
Sistema de producción en tronco	26.53 ± 1.42 ^a
Testigo	19.23 ± 0.11 ^b
CV%	5.07

a - b Medias seguidas con letra diferente son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E.= Desviación estándar.

C.V%.= Coeficiente de variación.

Las abejas obreras de *M. beecheii* son 20% menores en tamaño y en peso que las abejas comunes (Arzaluz 2004). Este tamaño menor podría deducir una menor energía y fuerza en el secado de la miel por las obreras ventiladoras de las *Melipona beecheii*. La ventilación es a través de corrientes de aire generadas por las abejas que ingresan aire exterior (seco) y extrae el interior (húmedo), hasta un contenido de agua del 17% al 20% en el momento del opérculo, que marca el fin de la transformación del néctar en miel (Calzada 2009).

El contenido de humedad en mieles, es variable porque también depende del entorno geográfico, las prácticas de extracción y manejo del producto debido a la naturaleza higroscópica (Díaz 2003). La higroscopicidad es un factor muy importante en las propiedades físicas de la miel. La capa superficial de la miel tiende a captar agua hasta alcanzar un equilibrio con la humedad del ambiente (Aguas *et al.* 2010). Este factor debe ser tenido en cuenta a la hora de la extracción y el almacenamiento por lo que es importante evitar colocar mieles en ambientes húmedos o muy secos.

Color. El color de las dos mieles de *M. beecheii* fueron diferentes al color de la miel de Zamorano, presentaron diferencias estadísticas significativas (P<0.05). La miel de meliponas presentó un color con alta luminosidad y una coloración ámbar claro (verde-amarilla) en comparación con la miel de Zamorano. El color de la miel está determinado por las plantas que las abejas visitan para recolectar el néctar. El color de la miel varía desde casi incoloro hasta pardo oscuro, lo cual es debido a pequeñas cantidades de pigmentos (carotenoides, clorofila y xantofila) que establecen la diferencia entre una miel clara y otra oscura (Suescún y Vit 2008).

Cuadro 6. Resultado de análisis físico: Color.

Tratamiento	L ± D.E.	a ± D.E.	b ± D.E.
Sistema de producción en caja	67.46 ± 3.47 ^a	-1.09 ± 0.32 ^a	11.26 ± 6.01 ^a
Sistema de producción en tronco	65.67 ± 1.74 ^a	-0.71 ± 0.20 ^a	14.22 ± 0.74 ^a
Control	45.91 ± 0.41 ^b	17.47 ± 0.58 ^b	29.13 ± 0.22 ^b
CV%	3.36	8.06	16.06

a - b Medias seguidas con letra diferente son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E.= Desviación estándar.

C.V%.= Coeficiente de variación.

Las abejas meliponas que se encontraron en las comunidades de El Paraíso presentaron una selectividad de pecoreo por las floraciones de *Liquidambar* y *Grevillea*. Encontrando que el color que predominó en las mieles de estas meliponas fue el color ambar claro. Las abejas *Apis mellifera* producida en Zamorano tuvo una selectividad al pecoreo por plantas cepitosas de tallos altos como la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). El cuál influyó a que las mieles de Zamorano presentaran un color pardo oscuro.

pH. Los tratamientos presentaron diferencias estadísticas en las mediciones de pH (p<0.05). La miel de *M. beecheii* obtuvo un pH más bajo que la miel de *A. mellifera*. Las mieles de abeja melífera tienen un pH ácido (3.5 a 4.5) y se debe a la presencia de ácidos orgánicos (Estrada *et al.* 2005). El principal ácido orgánico en la miel es el glucónico, el cual resulta de la actividad de la enzima glucosa oxidasa. Los otros ácidos presentes en la miel están en pequeñas cantidades y son: acético, butírico, láctico, cítrico, fórmico, maleíco, málico y oxálico (Mendizabal 2005).

Cuadro 7. Resultado químico: pH.

Tratamiento	pH ± D.E.
Sistema de producción en caja	3.12 ± 0.32 ^a
Sistema de producción en tronco	2.88 ± 0.17 ^a
Control	3.89 ± 0.02 ^b
CV%	6.45

a - b Medias seguidas con letra diferente son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E.= Desviación estándar.

C.V%.= Coeficiente de variación.

El pH en la miel está influenciado por sustancias mandibulares añadidas al néctar por parte de las abejas y el néctar (Alves *et al.* 2005), esto último se relaciona con lo mencionado por Suárez *et al.* 2002, que los ácidos presentes en la miel están vinculados a marcadores del origen botánico y geográfico.

La abejas *Meliponas beecheii* prefieren extraer sus recursos nectaríferos y poliníferos de una vegetación que contenga árboles y arbustos de talle alto, caso contrario a las *Apis mellifera* que prefiere vegetación baja constituida por plantas herbáceas (Villanueva y Coli 2012).

Los ácidos orgánicos de la miel de *Apis mellifera* conforman solamente el 0.5% de la composición de la miel, pero influyen favorablemente en el sabor y en la estabilidad que la miel presenta frente a microorganismos (Mendizabal 2005). El ácido glucónico constituye el 70 y el 80% de los ácidos totales (Gil 2010). Es producido por la acción de la glucosa oxidasa sobre la glucosa del néctar durante la transformación en miel, esta reacción es extremadamente lenta en mieles muy densas pero es rápida cuando la miel es fluida (Simal y Huidobro 2001). Esto se podría relacionar con las mieles de *Melipona beecheii* que por ser más fluidas o viscosas la acción de la gluco-oxidasa es más rápida y produce en mayor cantidad ácido glucónico.

Coliformes Totales. En todos los tratamientos hubo ausencia de coliformes totales, cumpliendo con el reglamento técnico para miel de abejas de SENASA <3NMP/ml de coliformes totales. Las propiedades intrínsecas de la miel tal como un bajo pH, una alta osmolaridad y una actividad de agua baja, son algunas características que resultan inhibitorias hacia bacterias y son las responsables de los bajos recuentos de bacterias y de la ausencia de coliformes totales y fecales; sin embargo permiten el crecimiento de levaduras (Zamora y Arias 2011).

Aerobios mesófilos. Se encontraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en los recuentos de aerobios mesófilos entre los tratamientos. Los tres tratamientos cumplieron con la norma costarricense de tener menos de 4 Log (UFC/g), sin embargo el sistema de producción de miel de meliponas en tronco no cumple con la norma mexicana de tener menos de 3 Log (UFC/g).

El alto recuento de aerobios mesófilos en sistema de troncos debió estar relacionado a malas condiciones de extracción o también que sellar los troncos con lodo ocasiona que a la hora de cosecha de la miel se obtiene un producto que arrastra en su contenido partículas de tierra (Manzo 2012). Además puede estar vinculado con la época de cosecha. La muestra más contaminada fue la cosechada en noviembre del año pasado. El mes de noviembre es un mes donde predomina en el municipio de Trojes, tormentas y climas bastante nublados, lo cual dificulta la extracción de la miel y permite que la tierra entre más fácilmente en contacto con los potes de miel.

Cuadro 8. Resultados Microbiológicos: Aerobios mesófilos (Log UFC/g).

Tratamiento	Media ± D.E.
Sistema de producción en caja	2.37 ± 0.27 ^a
Sistema de producción en tronco	3.02 ± 0.23 ^b
Control	2.53 ± 0.22 ^a
CV%	10.9

a = Medias seguidas con la misma letra son estadísticamente iguales (P>0.05)).

D.E.= Desviación estándar.

C.V%. = Coeficiente de variación.

Los microorganismos aerobios mesófilos indican la calidad sanitaria del alimento y se utiliza para monitorear la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura en los alimentos (Díaz 2003). En el estudio de Reyes 2012, se puede observar que se puede bajar 1 logaritmo la carga microbiana de aerobios mesófilos en la miel si se implementa una pasteurización de 60 °C por 30 minutos en baño maría. Las bacterias aerobias mesófilas se encuentran en el agua, el suelo y en los organismos superiores, son el tipo más común de microorganismo estudiado. En este grupo se incluyen todas las bacterias que pueden desarrollarse a 30° C, pero pueden hacerlo en rangos bien amplios de temperaturas inferiores y mayores. Todas las bacterias patogénicas de origen alimenticio son mesófilas (Castillo y Rugama 2010).

De acuerdo al estudio de Dardón y Vit 2008, las mieles de abeja sin aguijón evaluadas presentaron actividad antibacteriana a concentraciones de 2.5-10% (v/v) contra *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomona aeuroginosa*, *Salmonella typhi* y *Staphylococcus aureus*.

Estudios realizados han señalado que hay dos tipos de agentes antimicrobianos en la miel. La que tienen origen en el peróxido de hidrógeno, producida por la glucosa oxidasa y la debida a componentes diferentes al peróxido de hidrógeno, incluyendo la actividad de la lisozima, la presencia de ácidos aromáticos y volátiles. Siendo la acción no-peróxido más insensible a la luz y mantiene su actividad por largos periodos de tiempo (Bogdanov 1997). También asocian su efecto antiséptico a factores físicos y químicos que pueden estar relacionados con diferentes fuentes florales y abejas de diferentes orígenes y por otro lado con la osmolaridad que provoca la salida de líquidos de los tejidos, creando un ambiente húmedo aséptico que inhibe microorganismos patógenos (Cabrera *et al.* 2006)

Hongos y Levaduras. No hubieron diferencias estadísticas (P>0.05) en el recuento de hongos y levaduras. El sistema de producción en tronco y la miel de Zamorano cumplieron con el máximo límite permitido de 2 Log UFC/ml y cumple con la norma costarricense y mexicana de alimentos. El tratamiento de miel melipona producida en caja obtuvo un recuento de 1.96 Log UFC/g lo cual esta dentro de los límites permitidos por las dos normas evaluadas. Sin embargo, es necesario analizar con criterios microbiológicos este tipo de producción de miel de meliponas en cajas tecnificadas, ya que hubo una cosecha en la cual excedió los límites máximos permitidos de hongos y

levaduras haciéndola no apta para el consumo humano. Según Sarmiento *et al.* (2014), el alto recuento de hongos y levaduras en mieles se debe a una mala conservación o un deficiente control de temperatura a la que se expone el producto y a deficientes procesos de sanitación de superficies inertes. La mayoría de los organismos resistentes a la sequía hongos y levaduras no puede sobrevivir la actividad de agua por debajo de 0.6, es por eso que las mieles de Zamorano pueden considerarse estables frente al deterioro microbiano

Es probable que el alto recuento de hongos y levaduras en el sistema de producción en caja se deba a una fermentación y que este asociado con el tiempo de cosecha de la miel. La muestra que obtuvo mayor recuento de levaduras fue cosechada inmadura de los potes, obteniendo una miel verde-cruda con espuma. Aunque las mieles de abeja sin agujijón tiene mayor porcentaje de humedad que la miel de *Apis mellifera*, lo cual permite una pronta fermentación, se conservan fácilmente sin fermentar por tener una alta acidez y presencia de sustancias antibióticas (Nates-Parra 2005).

La fermentación se produce por la germinación y desarrollo de levaduras osmófilas, que se pueden encontrar en todas las mieles naturales no calentadas, provenientes del néctar o de una contaminación posterior. El contenido de agua es el que favorece el crecimiento de las levaduras, si la temperatura es 25°C aproximadamente (Gil 2010).

Cuadro 9. Resultados Microbiológicos: Hongos y Levaduras (Log UFC/g).

Tratamiento	Media ± D.E.
Sistema de producción en caja	1.96 ± 1.38 ^a
Sistema de producción en tronco	1.02 ± 0.57 ^a
Zamorano	0.69 ± 0 ^a
CV%	57.9

a = Medias seguidas con la misma letra son estadísticamente iguales (P>0.05)).

D.E.= Desviación estándar.

C.V%.= Coeficiente de variación.

Los mohos que se pueden encontrar en las mieles son del género *Penicillium* y *Mucor*, esporas de *Bettsya alvei* o moho del polen. Las esporas de este microorganismo no crea ningún problema si la miel no gana humedad en la superficie, por un mal almacenamiento, pudiendo de esta manera desarrollarse y alterar el producto (Salamanca *et al.* 2001). Es por eso que es muy importante tomar en cuenta el factor de la higroscopicidad en mieles.

Las levaduras encontradas en la miel pertenecen al género *Saccharomyces*. Ejemplos que se pueden encontrar en mieles son: *Saccharomyces bisporus* variedad mellis, *Saccharomices rouxii*, *Saccharomices bailii* variedad osmophilus (Salamanca *et al.* 2001). La levadura osmófila *Saccharomices rouxii* es la causante del deterioro de la miel por fermentación cuando la miel esta arriba de 0.65 de Aw (Carrillo y Audisio 2007).

4. CONCLUSIONES

- Al comparar la miel de abeja melífera, el contenido de humedad y Aw fue mayor para la miel de abejas sin aguijón *Melipona beecheii* por lo que esta miel fue menos viscosa.
- Las mieles de abejas sin aguijón tienen menor pH que la miel de abejas *A. mellifera*, beneficiando la conservación de la misma.
- Los tres tratamientos cumplen con los parámetros legales microbiológicos para aerobios mesófilos, hongos y levaduras y coliformes totales establecidos por el reglamento técnico para miel de abejas de SENASA, Costa Rica.
- En el recuento de aerobios mesófilos en miel de *M. beecheii* producida en troncos huecos excedió el límite aceptado por la norma mexicana de alimentos.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar una evaluación de las propiedades anti-microbianas de la miel de *Melipona beecheii* contra microorganismos patógenos.
- Emplear otro material de sellado para los troncos huecos para reducir la carga microbiana por parte de bacterias mesófilas aerobias.
- Capacitar a los apicultores acerca de la crianza tecnificada de abejas sin aguijón (meliponicultura) para brindar nuevas alternativas comerciales y puedan generar mayores ingresos.
- Elaborar parámetros microbiológicos de miel de *Melipona beecheii* incluyendo variables de madurez, humedad y pH que deberán ser valorados y correlacionados.
- Realizar protocolos de extracción enfocados en reducir la contaminación de la miel en el momento de extracción y así cumplir con las normas que se establecen para el producto.

6. LITERATURA CITADA

AOAC (Association of Analytical Communities). 1995. Method 978.18D Preparation of Reference Salt Slushes. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th Ed. AOAC International, Arlington VA.

Aguas, Yelitza, R. Oliveira y K. Cury. 2010. Determinación de adulteración y aceptabilidad de mieles (*Apis Mellifera*) comercializadas en Cartagena. Bolívar, Colombia. Rev. Colombiana cienc. Anim 2(2).

Al-Mahasneh Majdi, Taha Rababah, Amer Mashourbani y Mohamad Al-Omoush. 2014. Modeling physical and rheological behavior of minimally processed wild flowers honey. Journal of food science processing and preservation. Wiley Periodicals, Inc. 38 (1), 21-30.

Alves, R. M., C. A. Carvalho, B. A. Souza, G. Sodr e y L. C. Marchini. 2005. Características Físico-Qu micas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera:Apidae) Ciencia y Tecnologia de los Alimentos. Campinas. 25(4):644-650, 2005

Arzaluz, A. 2004. Multiplicando Colonias de Abeja “Real” (*Melipona beecheii*). Facultad de Ciencias Qu micas. UNACH Campus IV, Unidad Tapachula, Chiapas, México.

BAM (Bacteriological Analytical Manual). 2001. Aerobic Plate Count. Chapter 3.

BAM (Bacteriological Analytical Manual) 2001. Yeasts, Molds and Mycotoxins. Chapter 18.

Bogdanov, Stefan. 1997. Nature and Origin of the Antibacterial Substance in Honey. Lebensm. Wiss u.-Technol., 30, 748-753.

Cabrera, Lilibeth, E. Céspedes, R. Nava y G. Ojeda de Rodríguez. 2006. Actividad antibacteriana no-peróxido de mieles zulianas. Rev., Cientifica FCV-LUZ. Vol. XVI. N  5. 556-553.

Calzada, A. 2009. Todo Miel. Consultado el 22 de agosto de 2014. Disponible en: <http://www.todomiell.net/pdf/archivos/LA-MIEL.pdf>

Cárdenas C., F. Villat, G. Laporte, M. Noia y N. Mestorino. 2008. Características microbiológicas de la miel. *Veterinaria Cuyana* 3(1):29-3.

Carrillo, L. y M., Audisio. 2007. Manual de microbiología de los alimentos. Alberdi 47, 4600 SS Jujuy, Argentina.

Castillo, Y. y F. Rugama. 2010. Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria. Universidad Nacional de Ingeniería. UNI-Norte. 13p.

Codex Alimentarius. 2001. FAO/OMS. Codex norma para la miel. Codex Stan 12-1981. Revisado en 1987 y 2001.2p.

Dardón, M. J. 2005. Caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antibacteriana de la miel blanca producida por *Melipona beecheii* en Guatemala. Tesis Ing.Biología. Facultad de ciencias químicas y farmacias. Universidad de San Carlos de Guatemala. 13p.

Dardón, M. J. y P. Vit. 2008. Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (Meliponini) Guatemala. INCI. vol.33.n.12. Caracas.

Decagon Devices, Inc. 2003. Aqualab Series 3TE. Consultado el 20 de agosto de 2014. Disponible en http://www.foodingredientsonline.com/doc._/Aqualab-series-3te-001.

Díaz, Caamaño C. A. 2003. Determinación del origen floral y caracterización física y química de mieles de abeja (*Apis mellifera* L.), etiquetadas como “miel de ulmo” (*Eucryphia cordifolia* Cav.) Tesis Ing. Agrónomo. Escuela de Agronomía. Universidad Austral de Chile.

Enríquez, Eunice, C. Yurrita, C.H. Aldana, J. Ocheíta, R. Jauregui, P. Chau. 2004. Desarrollo de la crianza de abejas sin aguijón meliponicultura- para el aprovechamiento y comercialización de sus productos, como una alternativa económica sustentable en el área de El Trifinito Chiquimula. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación-MAGA- Guatemala.1-2p.

Estrada, H., M Gamboa, C. Reyes y M. Arias. 2005. Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus niger*. Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. ALAN v.55 n.2

Gil, Angel. 2010. Tratado de Nutrición. Tomo II. Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Coordinador Maria Dolores Ruiz. 2da ed. Madrid. Médica Panamericana. 241p.

Gutierrez, M. G., E. Enríquez, L. Lorenzo, A. Rodríguez, L. Persano y P. Vit. 2008. Caracterización de mieles de *Melipona beecheii* y *Melipona solani* de Guatemala. 3p.

Huicochea, L. 2011. Sabores, saberes y rituales curativos en torno a la miel de las meliponas. ECOFRONTERAS. No.43. 24p.

López Domínguez Düther Alfredo 2002. Validación de dos modelos de colmenas MARIA y UTOB con abejas sin aguijón *Melipona beecheii* y *Tetragonisca angustula*, en El Paraíso, Honduras Tesis Ing. Agroindustria Alimentaria. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 5 p.

Manrique, J.M. 1995. Las abejas sin aguijón o melipónidos. FONAIAP DIVULGA. No.50.

Manzo, C. A. 2012. Las abejas nativas sin aguijón (Meliponini) en la Huasteca Potosina. 11p.

Mendieta, Carrillo José Roberto. 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 Ing. Agroindustria Alimentaria. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 7 p.

Mendizábal, Federico. 2005. Abejas. Buenos Aires. República Argentina. Editorial Albatros. 85p.

MERCOSUR. 1994. Reglamento Técnico MercoSur de Identidad y Calidad de Miel. Resolución MSyAS N° 003, 11.01.95

Nates-Parra, Guiomar. 2005. Guía para la cría y manejo de la abeja angelita o virginita (*Tetragonisca angustula Illiger*) Bogotá, D.C. Convenido Andrés Bello 43p.

Nates-Parra, G. J., M. Rosso, M. Cepeda y J. Lugo. 2009. Características de la Meliponicultura en Colombia. Laboratorio de investigación en abejas (LABUN). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

NORMEX 2006. Sociedad Mexicana de Normalización y Certificación S.C. Norma mexicana de la miel. NMX-F-036-NORMEX-2006.

Reyes, H. D. 2012. Efecto de la pasteurización y proveedor apícola en las características microbiológicas y químicas de la miel de abeja. Tesis Ing. Agroindustria Alimentaria. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 6-7p.

Rosso, J.M. y G. Nates-Parra. 2005. Meliponicultura: una actividad generadora de ingresos y servicios ambientales. Laboratorio de investigación en abejas. Universidad Nacional de Colombia. 7p.

Salamanca G., C. Henao, G. Móreno y A. Luna. 2001. Características microbiológicas de las mieles tropicales de *Apis Mellifera*. Departamento de Química Universidad del Tolima. Consultado el 08 de agosto del 2014. Disponible en: http://www.beekeeping.com/articulos/salamanca/caracteristicas_microbiologicas_mieles.htm

Sarmiento, P., Gutiérrez C. y Hernández C. 2014. Comparación entre la calidad microbiológica de miel de *Tetragonisca Angustula* y de *Apis Mellifera*. Rev. Fac-Nal.Agr. Medellin 67(2).

SENASA 2009. Servicio Nacional de Salud Animal. Rtc 423: Reglamento Técnico Para Miel De Abejas. Costa Rica.

Smith, D. 2007. Jaleas de Frutas. Serie de procesamientos de Alimentos para Empresarios. Instituto de Agricultura y Recursos Naturales. Universidad de Nebraska Lincoln.

Suárez Luque, S., I. Mato, J. Huidrobo, J. Lozano y M. Sancho (2002). Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography A 955(2): 207-214.

Simal, J. y J.F. Huidobro 2001. Parámetros de calidad de la miel. Acidez (p H, libre lactónica y total) e Índice de formol. Departamento de Bromatología. Santiago de Compostela.

Suescún, L. y P. Vit. 2008. Control de calidad de la miel de abejas producida como propuesta para un proyecto de servicio comunitario obligatorio. Fuerza Farmacéutica. Año 12. Vol. I Enero 2008.

Tomasik, Piotr. 2004. Properties of food Saccharides. CRC Press LLC. 78p.

Villanueva, R. y Colli W. 2012. Rescate de la meliponicultura en la Zona Maya de Quintana Roo. Vit P & Roubik DW, editors. 3p.

Zamora, L. y Arias M. 2011. Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de abejas sin aguijón. Rev. Biomed; 22:5.

7. ANEXOS

Anexo 1. Correlaciones entre las variables de los tratamientos.

Pearson Correlation Coefficients, N = 9								
Prob > r under H0: Rho=0								
	Viscosidad	Aw	L	A	b	Ph	Humedad	Mesófilos
Viscosidad	1	-0.88456 0.0015	-0.67853 0.0445	0.94396 0.0001	0.94349 0.0001	0.9018 0.0009	-0.96608 <.0001	-0.31694 0.406
Aw	-0.88456 0.0015	1	0.50478 0.1658	-0.80014 0.0096	-0.83803 0.0048	-0.852 0.0035	0.95207 <.0001	0.24456 0.5259
L	-0.67853 0.0445	0.50478 0.1658	1	-0.87638 0.0019	-0.54008 0.1333	-0.44726 0.2274	0.54513 0.129	0.12571 0.7473
a	0.94396 0.0001	-0.80014 0.0096	-0.87638 0.0019	1	0.86001 0.0029	0.78798 0.0117	-0.8594 0.003	-0.27838 0.4683
b	0.94349 0.0001	-0.83803 0.0048	-0.54008 0.1333	0.86001 0.0029	1	0.97486 <.0001	-0.90471 0.0008	-0.47107 0.2006
pH	0.9018 0.0009	-0.852 0.0035	-0.44726 0.2274	0.78798 0.0117	0.97486 <.0001	1	-0.90038 0.0009	-0.55922 0.1175
Humedad	-0.96608 <.0001	0.95207 <.0001	0.54513 0.129	-0.8594 0.003	-0.90471 0.0008	-0.90038 0.0009	1	0.29783 0.4363
Mesófilos	-0.31694 0.406	0.24456 0.5259	0.12571 0.7473	-0.27838 0.4683	-0.47107 0.2006	-0.55922 0.1175	0.29783 0.4363	1
HL	-0.57021 0.1089	0.53641 0.1365	0.36181 0.3387	-0.47578 0.1955	-0.49567 0.1748	-0.52879 0.1433	0.61818 0.076	-0.01987 0.9595

Anexo 2. Caja racional utilizada por los meliponicultores en el municipio de Trojes.



Anexo 3. Tronco hueco listo para cosecha.



Anexo 4. Caja racional lista para cosecha.



Anexo 5. Criterios microbiológicos de la miel.

Coliformes totales/g	n=5	c=0	m=0
<i>Salmonella</i> spp - <i>Shigella</i> spp/25g	n=10	c=0	m=0
Hongos y levaduras UFC/g	n=5	c=2	m=10 M=100

Fuente: Código Alimentario Argentino - Reglamento Técnico Mercosur de Identidad y Calidad de Miel 1994