

**Efecto de la pasteurización y proveedor  
apícola en las características microbiológicas  
y químicas de la miel de abeja**

**Héctor David Reyes Rojas**

**Zamorano, Honduras**

Noviembre, 2012

ZAMORANO  
DEPARTAMENTO DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

# **Efecto de la pasteurización y proveedor apícola en las características microbiológicas y químicas de la miel de abeja**

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

Presentado por:

**Héctor David Reyes Rojas**

**Zamorano, Honduras**  
Noviembre, 2012

# **Efecto de la pasteurización y proveedor apícola en las características microbiológicas y químicas de la miel de abeja**

Presentado por:

Héctor David Reyes Rojas

Aprobado:

---

Blanca Valladares, M.Sc.  
Asesora principal

---

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

---

Mayra Márquez, Ph.D.  
Asesora

---

Raúl Zelaya, Ph.D.  
Decano Académico

## RESUMEN

Reyes Rojas, H.D. 2012. Efecto de la pasteurización y proveedor apícola en las características microbiológicas y químicas de la miel de abeja. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria, Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Honduras. 23 p.

Actualmente los consumidores demandan productos saludables y de alta calidad. Todo alimento corre el riesgo de contaminación microbiana y la miel no está exenta de ello. El objetivo del estudio fue determinar el efecto del tratamiento térmico y proveedores de la Planta Apícola de Zamorano en las características químicas y microbiológicas de la miel de abeja. El diseño experimental fue un Diseño Completo al Azar (DCA) con un arreglo de  $3 \times 2$ , evaluando a los proveedores de la Planta Apícola de Zamorano (La Paz, Choluteca y Francisco Morazán) y el tratamiento térmico (sin pasteurizar y pasteurizado) con un total de seis tratamientos y tres repeticiones. Se determinaron recuentos de aerobios mesófilos, hongos, levaduras, coliformes totales y fecales. Los análisis químicos evaluados fueron de pH, actividad de agua y humedad. Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en las características microbiológicas entre tratamientos sin pasteurizar y pasteurizados. Una vez pasteurizados, la miel de Francisco Morazán y La Paz resultaron ser las de menor carga microbiana de aerobios mesófilos. La miel de Francisco Morazán obtuvo un menor conteo de hongos y levaduras. En ninguna de las muestras hubo presencia de coliformes totales y fecales. En las propiedades químicas hubo diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) y la pasteurización no influyó en las propiedades químicas. En los resultados de pH se obtuvo un rango de 3.40 a 3.95, para actividad de agua un rango de 0.58 a 0.70 y para humedad un rango de 18.5 a 24.6. Se recomienda pasteurizar la miel a  $30^{\circ}\text{C}$  por 30 min.

**Palabras clave:** Aerobios mesófilos, coliformes, hongos y levaduras.

## CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas .....	ii
Resumen .....	iii
Contenido .....	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
<b>1 INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2 MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>3</b>
<b>3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>6</b>
<b>4 CONCLUSIONES.....</b>	<b>12</b>
<b>5 RECOMENDACIONES.....</b>	<b>13</b>
<b>6 LITERATURA CITADA.....</b>	<b>14</b>
<b>7 ANEXOS.....</b>	<b>16</b>

## ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros		Página
1.	Parámetros microbiológicos de la miel. ....	5
2.	Descripción de los tratamientos.....	5
3.	Resultados análisis microbiológicos: aerobios mesófilos. ....	6
4.	Resultados análisis microbiológicos: hongos y levaduras.....	7
5.	Resultados análisis químicos: pH.....	9
6.	Resultados análisis químicos: humedad. ....	10
7.	Resultados análisis químicos: actividad de agua. ....	11
Anexos		Página
1.	Conteos de aerobios mesófilos en tratamientos no pasteurizados.....	16
2.	Conteos de aerobios mesófilos en tratamientos pasteurizados.....	17
3.	Conteos de hongos y levaduras en tratamientos no pasteurizados. ....	18
4.	Conteos de hongos y levaduras en tratamientos pasteurizados. ....	19
5.	Resultados de coliformes totales en tratamientos no pasteurizados.....	19
6.	Resultados de coliformes totales en tratamientos pasteurizados. ....	20
7.	Resultados de coliformes fecales en tratamientos no pasteurizados. ....	20
8.	Resultados de coliformes fecales en tratamientos pasteurizados. ....	21
9.	Resultados de pH en tratamientos pasteurizados.....	21
10.	Resultados de pH en tratamientos no pasteurizados.....	22
11.	Resultados de humedad en tratamientos pasteurizados.....	22
12.	Resultados de humedad en tratamientos no pasteurizados.....	22
13.	Resultados de actividad de agua en tratamientos pasteurizados. ....	23
14.	Resultados de actividad de agua en tratamientos no pasteurizados. ....	23
15.	Tratamientos de miel analizados. ....	23

## 1. INTRODUCCIÓN

La miel tiene mayor volumen de comercialización y demanda a nivel mundial en comparación al resto de productos de la colmena (IICA 2009). La miel es una sustancia dulce y natural con cierto grado de acidez. Para su elaboración las abejas recolectan el néctar de plantas melíferas que luego transforman y combinan con sustancias específicas para su posterior maduración al tener menos de 20% de humedad (*Codex Alimentarius* 1999).

Los conteos microbiológicos en la miel suelen ser muy bajos ya que es un producto ácido (pH 3.7 a 4.5). En la flora microbiana de la miel se pueden encontrar microorganismos propios de la miel y los ocasionales o accidentales. Estos últimos son considerados el principal riesgo para la salud humana y son introducidos en la miel principalmente por manejo inapropiado del procesador, por descuidos en prácticas de extracción y procesamiento o sencillamente por falta de conocimiento de Buenas Prácticas Apícolas (Salamanca y Henao 1999).

En las distintas zonas de producción apícola los productores y/o procesadores no toman en cuenta el calentamiento de la miel desde el aspecto microbiológico y en algunos casos ni por desnaturalización de la miel. Al no tratar térmicamente la miel, este producto llega al consumidor final con la flora microbiana natural o incluso esta puede aumentar dependiendo del manejo e higiene que se le dé durante su estadía en la planta de procesamiento (IICA 2009).

El procesamiento de la miel comprende una serie de pasos que permiten su extracción de los panales hasta el envasado para su comercialización posterior. Aunque la miel cuenta con propiedades antibacterianas o bactericidas, es necesario que las prácticas de higiene estén presentes en todo el proceso para así garantizar la inocuidad y no comprometer la salud de los consumidores (Prost y Le Conte 2006).

Según OIRSA 2007, cuando las propiedades bactericidas de la miel no logran disminuir significativamente los conteos de carga microbiana, puede ser perjudicial y comprometer la salud de las personas. Para no arriesgar la salud de los consumidores, es importante comprobar los beneficios de tratar térmicamente o pasteurizar la miel en la reducción de la flora microbiana (IICA 2009).

La tendencia de producción y consumo de miel en Honduras va en aumento. En el año 2010 la producción creció hasta 330 toneladas métricas de miel que abarcaron el consumo local. Al ser un producto alimenticio que adquiere mayor apogeo en el mercado nacional,

los consumidores ahora tienen mayor conocimiento de él. Lo anterior implica que los apicultores y procesadores deben hacer todo lo posible por mantener e incluso mejorar la calidad de la miel. Esta calidad no debe ser vista solo desde el punto de vista de propiedades físico-químicas de la miel sino también desde el aspecto de inocuidad y microbiológico (Ortiz 2011).

Maradiaga (2005) evaluó los aspectos físicos, químicos y microbiológicos de 64 muestras de miel no descristalizadas de 32 comunidades hondureñas en los departamentos de Copán, La Paz, Intibucá, El Paraíso y Ocotepeque. Los resultados indicaron que todas las muestras no excedían el límite máximo de aerobios mesófilos ( $<10000$  UFC/mL), 3% de las muestras no cumplieron los límites máximos de hongos y levaduras ( $<100$  UFC/mL), 13% de las muestras no cumplieron los límites máximos de coliformes totales (completa ausencia) y por último ninguna muestra presentó coliformes fecales.

Con este estudio se logra verificar la calidad microbiológica y química de la materia prima interna (Francisco Morazán) y externa (La Paz y Choluteca) que entra a la Planta Apícola de Zamorano. Siendo el principal alcance de este estudio, poder comprobar si al implementar una correcta pasteurización se reduce significativamente la presencia microbiana y cómo esta misma carga varía por proveedor apícola dependiendo del manejo que se le da a la miel. Generalmente la miel es sometida a un proceso de calentamiento, cuyo fin principal es descristalizar o prevenir la cristalización. Si se aumenta la temperatura hasta el punto de pasteurización se puede reducir considerablemente la flora microbiana presente en la miel después de su cosecha (SENASICA 2009). De ahí resultan los objetivos de este estudio que son:

- Determinar el efecto del tratamiento térmico en las características microbiológicas y químicas de la miel de abeja.
- Determinar el efecto del proveedor apícola en las características microbiológicas y químicas de la miel de abeja.
- Comparar los resultados microbiológicos con los parámetros legales permisibles establecidos por OIRSA para aerobios mesófilos, hongos y levaduras, coliformes totales y fecales.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

**Ubicación.** Los análisis microbiológicos y de pH se llevaron a cabo en el Laboratorio de Microbiología (LMAZ). Los análisis de actividad de agua se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ) y la humedad de las muestras fue tomada en la Planta Apícola. Las áreas de trabajo anteriormente mencionadas se encuentran ubicadas en la Escuela Agrícola Panamericana, en el Valle del Yeguaré, San Antonio de Oriente, km 30 carretera a Danlí.

### **Materiales.**

Miel de abeja  
Agua destilada  
Medio de cultivo “Potato Dextrose Agar” (PDA)  
Medio de cultivo “Plate Count Agar” (PCA)  
Medio de cultivo “Lauryl Tryptose Broth” (LTB)  
Platos petri de plástico  
Bulbo y pipetas de 10 mL  
Etanol 70%  
Ácido tartárico 10 %  
Mechero de gas  
Chispero  
Probeta  
Erlenmeyer  
Termómetro  
Cinta adhesiva  
Marcadores

### **Equipo.**

Aqualab®. Modelo: Series 3TE  
Autoclave. Market Forge - Industries Inc. Sterilmatic  
Agitador magnético con calentamiento. IKA® C-MAG HS10  
Incubadora de 25°C - Isotemp Incubator  
Incubadora de 35°C - Thermo Scientific  
Incubadora de 45°C - Fisher Scientific  
Baño maría. Marca Precision  
Balanza digital. Fisher Science Education SLF 152-US  
Refractómetro - Pocket PAL 22S (ATAGO)  
Potenciómetro - Thermo Scientific, Orion Star Series A1

**Métodos.** Las muestras de miel evaluadas fueron cosechadas por cada proveedor en sus apiarios correspondientes. Todas fueron cosechadas el 21 de mayo de 2012. Posteriormente se trasladaron a la Planta Apícola de Zamorano en un lapso de tres días, de esta manera los análisis microbiológicos y químicos comenzaron el 24 de mayo de 2012. El almacenamiento de las muestras durante todo ese tiempo fue a temperatura ambiente y en botes de plástico (500 mL).

**Pasteurización.** Las condiciones del tratamiento térmico para el producto (miel) fueron de 60°C de temperatura alcanzada por la miel durante 30 minutos en baño maría, según lo especificado en el Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Miel publicado por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) en el 2009.

Para llevar a cabo la pasteurización, se dividieron las muestras de miel de cada proveedor en dos grupos. Un grupo para los tratamientos no pasteurizados y el otro para tratamientos pasteurizados. Se midieron 40 mL de miel y se depositaron en frascos de vidrio (2.5 cm de diámetro, 7 cm de altura y tapón de plástico) de esa capacidad. Posteriormente los frascos se colocaron en baño maría. Se esperó que la miel llegara a una temperatura de 60°C y después se comenzó a contar los 30 minutos que dura el tratamiento térmico. Se utilizó un termómetro para asegurar que la temperatura del tratamiento durante los 30 minutos fuera 60°C. Los frascos se agitaron levemente para lograr un calentamiento más uniforme de la miel sin sacarlos del baño maría. Una vez terminado el proceso de pasteurización, se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 10 minutos para comenzar a realizar los análisis químicos y microbiológicos.

**Análisis microbiológicos.** Se implementaron los métodos descritos en el Bacteriological Analytical Manual (BAM). Para los análisis de aerobios mesófilos se utilizó el método convencional descrito en el Capítulo 3: Conteo de Aerobios en placa. 2001. Para coliformes totales y fecales, los métodos descritos en el Capítulo 4: Determinación de *Escherichia coli* y coliformes. 1992. Sección D: Análisis para coliformes totales. Sección E: Análisis para coliformes y *E. coli*.

En el caso de los análisis de hongos y levaduras se tomó el método del Compendio de métodos para la examinación microbiológica de alimentos. Capítulo 16: Hongos y levaduras. Sección 16.52 Medio acidificado. 1992.

Los resultados microbiológicos se compararon con los parámetros establecidos en el Manual de Buenas Prácticas de Manufactura para plantas exportadoras de miel de abeja emitido por el Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA) en el 2007.

Cuadro 1. Parámetros microbiológicos de la miel.

Parámetro	Máximo permisible
Aerobios mesófilos	$1 \times 10^4$ UFC/mL
Hongos y levaduras	$1 \times 10^2$ UFC/mL
Coliformes totales y fecales	Ausencia

Fuente: Manual de Buenas Prácticas de Manufactura para plantas exportadoras de miel de abeja, OIRSA, 2007.

OIRSA establece que cuando los resultados de coliformes totales y fecales estén por debajo del límite de detección del método se declara como una completa ausencia de estos microorganismos por cada kilogramo de miel.

**Análisis químico.** Para los análisis de pH se implementó el método AOAC 945.27 y en los análisis de actividad de agua se trabajó con el método AOAC 978.18. Los análisis de humedad se tomaron igual que el procedimiento usado en la Planta Apícola de la Escuela Agrícola Panamericana utilizando el refractómetro Pocket PAL 22S (ATAGO).

**Diseño experimental.** Para este estudio se utilizó un Diseño Completo al Azar (DCA) con arreglo factorial de  $3 \times 2$  para un total de seis tratamientos. Los factores de estudio fueron tres proveedores apícolas y el uso de tratamiento térmico (pasteurización). Se hicieron tres repeticiones a cada tratamiento, permitiendo de esta manera obtener 18 unidades experimentales.

Cuadro 2. Descripción de los tratamientos.

Proveedor Apícola	Pasteurización	
	Si	No
Francisco Morazán	FM pasteurizado	FM no pasteurizado
La Paz	LP pasteurizado	LP no pasteurizado
Choluteca	Ch pasteurizado	Ch no pasteurizado

**Análisis Estadístico.** Se llevó a cabo con el programa estadístico “Statistical Analysis System” (SAS® versión 9.1.3). Para evaluar la interacción de los factores se realizó una separación de medias con LSMeans, en caso de no haber interacción entre los factores se utilizó Tukey. Niveles de significancia menor a 0.05 indicaron diferencia significativa entre los resultados y niveles de significancia mayores a 0.05 indicaron no diferencia significativa entre los resultados.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Aerobios mesófilos.** En el cuadro 3 se puede observar que hubo diferencia estadística ( $P < 0.05$ ) entre los diferentes tratamientos. Los recuentos de mesófilos aerobios oscilaron entre 2.52 a 2.99 y 1.43 a 2.39 en las mieles sin pasteurizar y pasteurizadas respectivamente. Según Armada y Ros (2007) los aerobios mesófilos crecen en un rango óptimo de 30 a 45°C. En este estudio el tratamiento de pasteurización aplicado fue a una temperatura de 60°C durante 25 minutos, por lo que la carga microbiana pudo haber disminuido sin llegar a la completa eliminación de aerobios mesofilos (SENASICA 2011).

Los resultados del efecto de la pasteurización en aerobios mesófilos, pudieron depender en gran medida de la carga microbiana inicial que contenía cada tratamiento. Los conteos altos de aerobios mesófilos en miel pasteurizada del proveedor de Choluteca pudo deberse a una mayor presencia inicial de microorganismos termodúricos y/o esporulados debido a su característica de resistir las temperaturas de pasteurización. Cuando se comparan mieles de diferente carga microbiana, el efecto del calor es igual en todas las mieles, por lo tanto mieles con mayor presencia de microorganismos antes de la pasteurización, tendrán también mayor presencia de estos microorganismos al final de la pasteurización (Hernández *et al.* 2002).

Cuadro 3. Resultados análisis microbiológicos: aerobios mesófilos.

Proveedor Apícola	Tratamiento térmico	Log UFC/mL $\pm$ D.E.
Choluteca	sin pasteurizar	2.99 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>
La Paz	sin pasteurizar	2.61 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>
Francisco Morazán	sin pasteurizar	2.52 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>
Choluteca	pasteurizado	2.39 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>
La Paz	pasteurizado	1.46 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
Francisco Morazán	pasteurizado	1.43 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>

<sup>abc</sup> Medias seguidas de letra diferente son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

D.E. = Desviación Estándar.

Los tratamientos no pasteurizados de las tres proveedores no presentaron diferencia significativa en conteos de aerobios mesófilos ( $P > 0.05$ ). Estadísticamente los tres tratamientos representan la misma carga microbiana previa a la pasteurización, es decir que el manejo previo y posterior a la cosecha realizada por cada proveedor y otras características como ubicación y floración en cada zona de producción no influyó en la cantidad de aerobios mesófilos encontrados en los tratamientos no pasteurizados.

Una vez pasteurizados, se encontró diferencia significativa en los conteos entre tratamientos ( $P < 0.05$ ), pero no en todos. Los tratamientos de Francisco Morazán y La Paz ambos pasteurizados fueron estadísticamente iguales, ya que los recuentos microbianos después de la pasteurización fueron de 1.43 y 1.46 Log UFC/mL, respectivamente.

El tratamiento Choluteca pasteurizado fue la zona de mayor conteo de aerobios mesófilos esto podría estar relacionado con el manejo, higiene de instalaciones, aparatos y equipos que utilizaron para la extracción de la miel, ya que pudieron ser las principales fuentes de contaminación (Pérez y Jimeno 1985). De acuerdo a información proporcionada por los productores, en Choluteca es el único lugar de las tres zonas donde la extracción de miel de los panales y demás actividades procesadoras se realizan al aire libre por lo tanto hay mayor riesgo de contaminación. Debido a lo anterior resultan los altos conteos de aerobios mesófilos en Choluteca. Las otras dos zonas cuentan con las instalaciones adecuadas para realización de las actividades de extracción (edificio cerrado).

Otra posible razón por la que hubo mayor presencia de aerobios mesófilos en la miel de Choluteca se debe a la falta de uso de agentes desinfectantes en las tareas de higienización de equipos y utensilios. En La Paz utilizan limón como desinfectante alternativo y en Francisco Morazán utilizan cloro.

**Hongos y levaduras.** Independientemente del tratamiento térmico y de la zona de producción, los tratamientos fueron estadísticamente diferentes ( $P > 0.05$ ). Los rangos de hongos y levaduras oscilaron de 1.82 a 2.92 y de 0.87 a 1.34 en las mieles sin pasteurizar y pasteurizadas respectivamente (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resultados análisis microbiológicos: hongos y levaduras.

Proveedor Apícola	Tratamiento térmico	Log UFC/mL $\pm$ D.E.
Choluteca	sin pasteurizar	2.92 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
La Paz	sin pasteurizar	2.58 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
Francisco Morazán	sin pasteurizar	1.82 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>
Choluteca	pasteurizado	1.34 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>
La Paz	pasteurizado	1.00 $\pm$ 0.03 <sup>e</sup>
Francisco Morazán	pasteurizado	0.87 $\pm$ 0.03 <sup>f</sup>

<sup>a-f</sup> Medias seguidas de letra diferente son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

D.E. = Desviación Estándar.

Se encontró menor presencia de hongos y levaduras después de la pasteurización en todos los tratamientos. De acuerdo a Pérez y Jimeno (1985), las levaduras presentes en la miel generalmente son del género *Saccharomyces*, microorganismos que crecen en un rango óptimo de temperatura de 22 a 29°C y no soportan temperaturas mayores a 53°C, razón por la que son más sensibles al tratamiento térmico que los aerobios mesófilos.

Los bajos conteos iniciales y la disminución en la carga de hongos y levaduras después del tratamiento térmico en este estudio fueron un resultado similar a lo encontrado por

González y Zamudio (2005). Ellos atribuyen este hecho a que los hongos y levaduras generalmente presentes en la miel no se desarrollan a su temperatura óptima dentro de la colmena y debido a eso los conteos no suelen ser muy altos.

Para resultados de hongos y levaduras, según el proveedor apícola, el tratamiento térmico causó diferencias significativas en la población en los diferentes tratamientos ( $P < 0.05$ ). Esto podría estar relacionado con el manejo que se le dio a la miel en los apiario de cada apicultor. La miel con menor recuento de hongos y levaduras fue la producida en Francisco Morazán.

Choloteca presentó la mayor cantidad de hongos y levaduras antes del pasteurizado y nuevamente después del pasteurizado, 2.94 y 1.34 Log UFC/mL respectivamente. Posiblemente esto se debe a que la zona de cosecha de miel en Choloteca es medio pantanosa y húmeda por el predominio de una floración de mangle dulce (*Maytenus phyllanthoide*). Según Rodríguez y Magro (2008) los hongos y levaduras crecen en ambientes húmedos.

**Coliformes totales y fecales.** Se observó la ausencia de estos microorganismos en los seis tratamientos durante las tres repeticiones. Los recuentos de Coliformes fecales y totales siempre resultaron por debajo del límite de detección ( $< 0.3$  NMP/mL). De acuerdo a OIRSA cuando los resultados de coliformes totales y fecales estén por debajo del límite de detección del método se declara como una completa ausencia

Las características propias de la miel como antimicrobianos, pH (3.9) y actividad de agua (0.49 a 0.65) son los principales factores que pueden inhibir naturalmente el crecimiento de estos microorganismos (González y Zamudio 2005). Los tratamientos evaluados presentaron un rango de pH 3.40 a 3.95 y un rango de actividad de agua ( $a_w$ ) de 0.58 a 0.70. La ausencia de estos microorganismos puede indicar que no hubo una fuente contaminación de ellos en el proceso de extracción de la miel.

**Parámetros microbiológicos según OIRSA, 2007.** Los resultados microbiológicos se compararon con los parámetros legales que han sido establecidos en el Manual de Buenas Prácticas de Manufactura para plantas exportadoras de miel de abeja de acuerdo a OIRSA 2007. Para resultados de aerobios mesófilos, todos los tratamientos no pasteurizados y no pasteurizados no sobrepasaron los límites permisibles. Los recuentos de coliformes totales y coliformes fecales se mantuvieron en ausencia, logrando de esta manera cumplir con lo establecido legalmente.

Para resultados de hongos y levaduras, Francisco Morazán fue el único tratamiento no pasteurizado que logró no sobrepasar el límite máximo permisible. Choloteca y La Paz no pasteurizado no cumplieron con este parámetro, ya que sus conteos fueron más altos que el límite máximo. Esto se debió posiblemente a la presencia de mucha humedad en el área de extracción de miel. Una vez pasteurizados, todos los tratamientos cumplieron con lo establecido por el OIRSA para hongos y levaduras.

En general, los conteos microbiológicos fueron bajos debido a que la miel es un alimento que por su naturaleza tiene una baja carga microbiológica (Salamanca *et al.* 2003). Sin embargo las medidas de higiene se deben mantener e incluso mejorar para evitar futuros problemas con la calidad microbiológica de la miel.

**Resultados de pH.** Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ) en los análisis de pH. Independiente del tratamiento térmico las mieles de La Paz presentaron pH menores que las mieles procedentes de Francisco Morazán y Choluteca, como se muestra en el cuadro 5. Los rangos de pH oscilaron de 3.92 a 3.93 y de 3.78 a 3.85 en las mieles sin pasteurizar y pasteurizadas respectivamente.

En las apiarios de cada proveedor apícola se encontraron plantas melíferas de diferente composición botánica y biológica. De acuerdo a Pérez y Ordetx (1983), diferentes floraciones proveen un néctar de diferente composición nutricional por lo tanto influye en las características finales de la miel.

Cuadro 5. Resultados análisis químicos: pH.

Proveedor Apícola	Tratamiento térmico	pH $\pm$ D.E.
Choluteca	sin pasteurizar	3.93 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
La Paz	sin pasteurizar	3.56 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
Francisco Morazán	sin pasteurizar	3.92 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
Choluteca	pasteurizado	3.85 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
La Paz	pasteurizado	3.52 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>
Francisco Morazán	pasteurizado	3.78 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup> Medias seguidas de letra diferente son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).  
D.E. = Desviación Estándar.

La diferencia de pH entre las mieles de cada proveedor pudo estar relacionado con la diversidad floral de donde las abejas obtuvieron el néctar para elaborar la miel (Zandamela 2008). La floraciones presentes en cada zona fueron: *Maytenus phyllanthoides* o mangle dulce en Choluteca, *Lonchocarpus domingensis* o guamá y *Coffea arabica* o café en La Paz y por último *Saccharum officinarum* o caña de azúcar en Francisco Morazán.

Se obtuvo una correlación alta positiva entre el pH y los recuentos de hongos y levaduras (0.75,  $P < 0.05$ ). Sin embargo los resultados no demostraron lo anterior ya que hubo menor presencia de hongos y levaduras en mieles de Francisco Morazán cuyos tratamientos presentaron mayor pH. Esto se atribuye al manejo de la miel en cosecha y procesamiento. Francisco Morazán cuenta con mejores prácticas apícolas, manufactura y sanitización que las demás zonas, por lo tanto esto pudo influir en la reducción de hongos y levaduras previo al tratamiento térmico y por consiguiente también después del tratamiento térmico.

**Humedad.** Los tratamientos presentaron diferencias en las mediciones de humedad ( $P < 0.05$ ). En el cuadro 6 se puede observar que la miel de Francisco Morazán independiente del tratamiento térmico presentó el mayor porcentaje de humedad. Los rangos de humedad oscilaron de 18.80 a 24.50 y de 18.86 a 24.33 en las mieles sin pasteurizar y pasteurizadas respectivamente.

Cuadro 6. Resultados análisis químicos: humedad.

Proveedor Apícola	Tratamiento térmico	Humedad (%) $\pm$ D.E.
Choluteca	sin pasteurizar	18.80 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>
La Paz	sin pasteurizar	18.86 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
Francisco Morazán	sin pasteurizar	24.50 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>
Choluteca	pasteurizado	18.86 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>
La Paz	pasteurizado	18.86 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>
Francisco Morazán	pasteurizado	24.33 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Medias seguidas de letra diferente son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

D.E. = Desviación Estándar.

El porcentaje de humedad dependió del grado de madurez que tenía la miel al momento de su cosecha y no de la temperatura de la pasteurización. Para determinar la madurez de la miel, el apicultor debió estar seguro que las celdas con miel estuvieran 75% operculadas. Mieles cosechadas de esta manera logran un porcentaje menor a 20% de humedad (Pérez y Ordetx 1983). La diferencia significativa que hubo de porcentaje de humedad podría estar relacionada a que la miel de Francisco Morazán se cosechó antes de tiempo, es decir que sus celdas estaban menos del 75% operculadas, por lo tanto obtuvo un porcentaje de humedad mayor que la miel de La Paz y Choluteca. Las mieles de La Paz y Choluteca fueron cosechadas maduras lo que permitió alcanzar porcentajes de humedad menor a 20%.

Hubo una correlación positiva entre la humedad y recuento de aerobios mesófilos (0.71,  $P < 0.05$ ). Esto no se cumplió nuevamente como en el caso de pH y hongos y levaduras por la misma razón de manejo anteriormente explicada.

**Actividad de Agua ( $a_w$ ).** En el cuadro 7, se encontró diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ). Independiente del tratamiento térmico y del proveedor, la miel de Francisco Morazán presentó el mayor valor de actividad de agua. Los rangos de actividad de agua oscilaron de 0.58 a 0.70 y de 0.59 a 0.70 en las mieles sin pasteurizar y pasteurizadas respectivamente.

Cuadro 7. Resultados análisis químicos: actividad de agua.

Proveedor Apícola	Tratamiento térmico	$a_w \pm D.E.$
Choloteca	sin pasteurizar	$0.59 \pm 0.003^a$
La Paz	sin pasteurizar	$0.58 \pm 0.005^a$
Francisco Morazán	sin pasteurizar	$0.70 \pm 0.003^b$
Choloteca	pasteurizado	$0.61 \pm 0.032^a$
La Paz	pasteurizado	$0.59 \pm 0.002^a$
Francisco Morazán	pasteurizado	$0.70 \pm 0.005^b$

<sup>ab</sup> Medias seguidas de letra diferente son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

D.E. = Desviación Estándar.

$a_w$  = actividad de agua.

La actividad de agua está positivamente relacionada con la humedad de la miel (Sanz y Sanz 1994). Lo anterior explica la diferencia que hubo en los resultados de actividad de agua para las mieles de cada proveedor ya que fueron las mismas diferencias marcadas por el porcentaje de humedad. Francisco Morazán al tener mayor porcentaje de humedad también obtuvo mayor actividad de agua. La Paz y Choloteca no son estadísticamente diferentes al igual que en el caso de la humedad.

Se encontró una correlación positiva entre el crecimiento de hongos y levaduras y actividad de agua (0.95,  $P < 0.05$ ). Sin embargo como en el caso del pH y humedad no se cumplió por factores como manejo de la miel durante la cosecha, transporte, condiciones de almacenamiento y ubicación de los apiarios para cada proveedor apícola. La pasteurización no influyó en los resultados de pH, solo el proveedor.

## 4. CONCLUSIONES

- La pasteurización disminuyó 1.0 logaritmo la carga microbiana de aerobios mesófilos y 1.5 logaritmos en hongos y levaduras, por lo cual es un proceso recomendado para reducir y mantener los conteos a los límites permisibles. La pasteurización no influyó en los resultados químicos.
- Las características microbiológicas se ven influenciadas por el proveedor apícola y la pasteurización. En cambio las características químicas sólo por el proveedor apícola.
- Todos los tratamientos pasteurizados cumplen con los requisitos microbiológicos de comercialización para aerobios mesófilos, hongos y levaduras, coliformes totales y fecales según lo señalado por OIRSA. Los tratamientos no pasteurizados no cumplen con los requisitos microbiológicos a excepción de la miel de Francisco Morazán.

## 5. RECOMENDACIONES

- Realizar análisis microbiológicos de microorganismos más específicos que pueden estar presentes en la miel y que han ocasionado daños a la salud humana como *Clostridium botulinum* y *Salmonella spp.*
- Comparar análisis microbiológicos de miel descristalizada y miel pasteurizada para ver que tan significativo es el cambio de temperaturas y tiempo sobre la carga microbiana.

## 6. LITERATURA CITADA

AOAC. 1990. Materiales y equipo para análisis físico-químicos de miel. Análisis de pH, AOAC 945.27 y análisis de actividad de agua, AOAC 978.18.

Armada, L. y C. Ros. 2007. Manipulador de Alimentos: La importancia de la higiene en la elaboración y servicio de comida. 2 ed. Madrid, España. 244 p.

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

BAM (Bacteriological Analytical Manual). 1992. Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. Section D and E.

*Codex Alimentarius*. 1999. FAO/OMS Norma mundial del Codex para la Miel, Codex Stan 12-1981, Rev. 1987, Roma, 1990. CAC/Vol. III, Supl. 2

González Quijano, J.A. y M. Zamudio Maya. 2005. Evaluación de la calidad microbiológica de la miel en panal producida en Yucatán. Yucatán, México. Universidad Autónoma de Yucatán. 10 p.

Hernández, A., I. Alfaro y R. Arrieta. 2002. Microbiología Industrial. 1 ed. México DF, México. 269 p.

IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Costa Rica). 2009. Manual de Apicultura Básica para Honduras. (en línea) Tegucigalpa, Honduras. Consultado el 5 de septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.iica.int/Esp/regiones/central/honduras/Publicaciones%20de%20la%20Oficina/Manual%20Apicultura%20Basica%20para%20Honduras.pdf>

Maradiaga Pineda, D. I. 2005. Caracterización físico-química y microbiológica de miel de abeja de cinco departamentos de Honduras. Proyecto especial de graduación del programa de Agroindustria Alimentaria. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras. 72 p.

OIRSA (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria, Honduras). 2007. Manual de Buenas Prácticas de Manufactura para plantas exportadoras de miel de abejas. (en línea). Consultado el 5 de septiembre de 2012. Disponible en <http://www.oirsa.org/aplicaciones/subidoarchivos/BibliotecaVirtual/ManualBPMexportadorasMIEL.pdf>

Ortiz, M. 2011. Casi 300 toneladas métricas de miel producen apicultores hondureños. Hondudiario, Tegucigalpa, Honduras.

Pérez, D. y G. Ordetx. 1983. Flora Apícola Tropical. 1 ed. Cartago, Costa Rica. 406 p.

Pérez Arquillue, C. y M. Jimeno Benito. 1985. Hojas divulgadoras: Manejo y alteraciones de la miel. Núm 13/85 HD. Madrid, España. 16 p.

Prost, P. y Y. Le Conte. 2006. Apicultura: Conocimiento de la abeja, manejo de la colmena. 4 ed. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa. 791 p.

Rodríguez, V. y E. Magro. 2008. Bases de la Alimentación Humana. 1 ed. La Coruña, España. 559 p.

Salamanca, G. y C. Henao. 1999. Características microbiológicas de las mieles tropicales de *Apis mellifera*. Ibagué, Colombia. Departamento de Química, Universidad del Tolima. 7 p.

Salamanca, G., F. Pérez y B. Serra. 2003. Determinación de la actividad de agua en mieles colombianas de las zonas de Bocayá y Tolima. Ibagué, Colombia. Departamento de Química, Universidad del Tolima. 8p.

Sanz Cervera, S. y M. Sanz Cervera. 1994. Caracterización de mieles de La Rioja: humedad, cenizas y conductividad eléctrica de mieles de La Rioja. Logroño, España. Universidad de La Rioja y Universidad de Zaragoza. 16 p.

SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, México). 2009. Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Miel. (en línea). Consultado el 3 de septiembre de 2012. Disponible en:  
<http://sistemas2.senasica.gob.mx/miel/static/manuales/2manual%20BMyE-%20miel.pdf>

Splittstoesser, D. y C. Vardertzant. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Molds and Yeast. 4 ed. Washington DC, Estados Unidos. Sheridan Books, Inc. 677 p.

Zandamela, E. 2008. Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique. Tesis Ph.D. Barcelona, España. Universitat Autònoma de Barcelona. 241 p.

## 7. ANEXOS

Anexo 1. Conteos de aerobios mesófilos en tratamientos no pasteurizados.

Rep.	Proveedor	Dilución	Réplica 1	Réplica 2	UFC/mL	Log
1	Choloteca	10 <sup>0</sup>	TNTC	242	1725	3.23
		10 <sup>1</sup>	166	179		
	La Paz	10 <sup>0</sup>	205	211	355	2.55
		10 <sup>1</sup>	32	39		
	Zamorano	10 <sup>0</sup>	69	75	390	2.59
		10 <sup>1</sup>	29	42		
2	Choloteca	10 <sup>0</sup>	249	TNTC	1740	3.24
		10 <sup>1</sup>	170	178		
	La Paz	10 <sup>0</sup>	220	187	470	2.67
		10 <sup>1</sup>	43	51		
	Zamorano	10 <sup>0</sup>	75	78	290	2.46
		10 <sup>1</sup>	30	28		
3	Choloteca	10 <sup>0</sup>	245	TNTC	336	2.52
		10 <sup>1</sup>	171	165		
	La Paz	10 <sup>0</sup>	198	206	420	2.62
		10 <sup>1</sup>	53	31		
	Zamorano	10 <sup>0</sup>	83	76	325	2.51
		10 <sup>1</sup>	31	34		

## Anexo 2. Conteos de aerobios mesófilos en tratamientos pasteurizados.

Rep.	Proveedor	Dilución	Réplica 1	Réplica 2	UFC/mL	Log
1	Choloteca	$10^0$	185	180	315	2.49
		$10^1$	33	30		
	La Paz	$10^0$	29	28	28.5	1.45
		$10^1$	4	6		
	Zamorano	$10^0$	28	26	27	1.43
		$10^1$	16	17		
2	Choloteca	$10^0$	188	172	235	2.37
		$10^1$	22	25		
	La Paz	$10^0$	29	31	30	1.47
		$10^1$	9	8		
	Zamorano	$10^0$	26	31	28.5	1.45
		$10^1$	19	17		
3	Choloteca	$10^0$	193	195	215	2.33
		$10^1$	23	20		
	La Paz	$10^0$	30	31	30.5	1.48
		$10^1$	15	16		
	Zamorano	$10^0$	29	26	27.5	1.43
		$10^1$	14	19		

## Anexo 3. Conteos de hongos y levaduras en tratamientos no pasteurizados.

Rep.	Proveedor	Dilución	Réplica 1	Réplica 2	UFC/mL	Log
1	Choloteca	$10^0$	198	201	770	2.88
		$10^1$	74	80		
	La Paz	$10^0$	168	173	390	2.59
		$10^1$	34	44		
	Zamorano	$10^0$	61	74	67.5	1.82
		$10^1$	8	9		
2	Choloteca	$10^0$	209	205	945	2.97
		$10^1$	92	97		
	La Paz	$10^0$	183	179	385	2.58
		$10^1$	40	37		
	Zamorano	$10^0$	75	69	72	1.85
		$10^1$	10	7		
3	Choloteca	$10^0$	204	199	850	2.92
		$10^1$	81	89		
	La Paz	$10^0$	172	166	375	2.57
		$10^1$	36	39		
	Zamorano	$10^0$	67	63	65	1.81
		$10^1$	13	10		

## Anexo 4. Conteos de hongos y levaduras en tratamientos pasteurizados.

Rep.	Proveedor	Dilución	Réplica 1	Réplica 2	UFC/mL	Log
1	Choloteca	10 <sup>0</sup>	20	24	22	1.34
		10 <sup>1</sup>	0	0		
	La Paz	10 <sup>0</sup>	5	9	7	0.84
		10 <sup>1</sup>	2	4		
	Zamorano	10 <sup>0</sup>	11	8	9.5	0.97
		10 <sup>1</sup>	4	3		
2	Choloteca	10 <sup>0</sup>	24	21	22.5	1.35
		10 <sup>1</sup>	3	1		
	La Paz	10 <sup>0</sup>	7	8	7.5	0.87
		10 <sup>1</sup>	2	2		
	Zamorano	10 <sup>0</sup>	11	9	10	1.00
		10 <sup>1</sup>	5	4		
3	Choloteca	10 <sup>0</sup>	23	20	21.5	1.33
		10 <sup>1</sup>	0	3		
	La Paz	10 <sup>0</sup>	9	7	8	0.90
		10 <sup>1</sup>	3	1		
	Zamorano	10 <sup>0</sup>	12	10	11	1.04
		10 <sup>1</sup>	5	3		

## Anexo 5. Resultados de coliformes totales en tratamientos no pasteurizados.

Repetición	Proveedor Apícola	Tubos Positivos			NMP/mL
		1 mL	0.1 mL	0.01 mL	
1	Choloteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3
2	Choloteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3
3	Choloteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3

## Anexo 6. Resultados de coliformes totales en tratamientos pasteurizados.

Repetición	Proveedor Apícola	Tubos Positivos			NMP/mL
		1 mL	0.1 mL	0.01 mL	
1	Choluteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3
2	Choluteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3
3	Choluteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3

## Anexo 7. Resultados de coliformes fecales en tratamientos no pasteurizados.

Repetición	Proveedor Apícola	Tubos Positivos			NMP/mL
		1 mL	0.1 mL	0.01 mL	
1	Choluteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3
2	Choluteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3
3	Choluteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3

## Anexo 8. Resultados de coliformes fecales en tratamientos pasteurizados.

Repetición	Proveedor Apícola	Tubos Positivos			NMP/mL
		1 mL	0.1 mL	0.01 mL	
1	Choluteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3
2	Choluteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3
3	Choluteca	0/3	0/3	0/3	<0.3
	La Paz	0/3	0/3	0/3	<0.3
	Francisco Morazán	0/3	0/3	0/3	<0.3

## Anexo 9. Resultados de pH en tratamientos pasteurizados.

Proveedor Apícola	Repetición	pH
Francisco Morazán	1	3.79
Choluteca	1	3.85
La Paz	1	3.67
Francisco Morazán	2	3.76
Choluteca	2	3.85
La Paz	2	3.51
Francisco Morazán	3	3.80
Choluteca	3	3.87
La Paz	3	3.40

## Anexo 10. Resultados de pH en tratamientos no pasteurizados.

Proveedor Apícola	Repetición	pH
Francisco Morazán	1	3.90
Choluteca	1	3.93
La Paz	1	3.58
Francisco Morazán	2	3.95
Choluteca	2	3.93
La Paz	2	3.55
Francisco Morazán	3	3.91
Choluteca	3	3.94
La Paz	3	3.57

## Anexo 11. Resultados de humedad en tratamientos pasteurizados.

Proveedor Apícola	Repetición	Humedad (%)
Francisco Morazán	1	24.40
Cholu	1	18.80
La Paz	1	18.50
Francisco Morazán	2	24.30
Cholu	2	19.00
La Paz	2	19.00
Francisco Morazán	3	24.30
Cholu	3	18.80
La Paz	3	19.10

## Anexo 12. Resultados de humedad en tratamientos no pasteurizados.

Proveedor Apícola	Repetición	Humedad (%)
Francisco Morazán	1	24.50
Choluteca	1	19.50
La Paz	1	19.10
Francisco Morazán	2	24.60
Choluteca	2	19.70
La Paz	2	18.70
Francisco Morazán	3	24.40
Choluteca	3	20.10
La Paz	3	18.80

Anexo 13. Resultados de actividad de agua en tratamientos pasteurizados.

Proveedor Apícola	Repetición	Actividad de Agua
Francisco Morazán	1	0.696
Cholu	1	0.653
La Paz	1	0.599
Francisco Morazán	2	0.706
Cholu	2	0.598
La Paz	2	0.597
Francisco Morazán	3	0.705
Cholu	3	0.596
La Paz	3	0.594

Anexo 14. Resultados de actividad de agua en tratamientos no pasteurizados.

Proveedor Apícola	Repetición	Actividad de Agua
Francisco Morazán	1	0.703
Cholulteca	1	0.602
La Paz	1	0.578
Francisco Morazán	2	0.706
Cholulteca	2	0.599
La Paz	2	0.586
Francisco Morazán	3	0.709
Cholulteca	3	0.595
La Paz	3	0.588

Anexo 15. Tratamientos de miel analizados.

