

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



Proyecto Especial de Graduación
Evaluación de la calidad microbiana de miel de abeja procesada en la
Planta Apícola de Zamorano

Estudiante

Alan Daniel Cruz Monroy

Asesoras

Blanca C. Valladares, MSc.

Mayra Márquez, Ph.D.

Honduras, agosto 2022

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.....	5
Índice de Anexos.....	6
Resumen	7
Abstract.....	8
Introducción.....	9
Materiales y Métodos	11
Ubicación	11
Obtención de la Materia Prima.....	11
Procesamiento de la Miel Propolizada	11
Análisis Físicoquímicos.....	12
Actividad de Agua (a_w)	12
Humedad (%)	12
Potencial de Hidrógeno (pH).....	12
Sólidos Solubles (°Brix).....	13
Análisis Microbiológicos.....	13
Diseño Experimental	13
Resultados y Discusión.....	14
Potencial de Hidrógeno (pH).....	14
Humedad (%), Sólidos Solubles (Grados Brix) y Actividad de Agua (a_w).....	14
Coliformes Totales	16
Mesófilos Aerobios	17
Hongos y Levaduras	18
Conclusiones	21
Recomendaciones.....	22

Referencias.....23

Anexos.....27

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Descripción de los tratamientos con miel de abeja.	12
Cuadro 2 Resultado de análisis químicos: valores de pH de la miel de abeja.	14
Cuadro 3 Resultado de análisis químicos: humedad (%), sólidos solubles y Actividad de agua (a_w) de la miel.	15
Cuadro 4 Resultado de análisis microbiológicos: recuento de mesófilos aerobios de la miel.	18
Cuadro 5 Resultado de análisis microbiológicos: recuentos de hongos y levaduras de la miel.	19

Índice de Anexos

Anexo A Tratamientos de miel sin procesar, descristalizada y propolizada.....	27
Anexo B Parámetros microbiológicos para miel de abeja	28
Anexo C Vegetación predominante en el Apiario: Local (AL), Monte Redondo (MR) y Pantanal (P)...	29
Anexo D Flujo de proceso de la miel.....	30

Resumen

La miel cuenta con una microbiota dentro de su composición y cambia dependiendo de varios factores, entre estos se encuentran la manipulación al momento de la cosecha y el procesamiento. Por esta razón se debe asegurar a los consumidores que el producto que esta adquiriendo se encuentre bajo los rangos requeridos para considerarse inocuo. El objetivo de este estudio fue comparar como influyó el descristalizado y la adición de propóleo en la química y carga microbiológica de la miel durante sus etapas de procesamiento como miel propolizada. Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA), con tres tratamientos (miel testigo, miel descristalizada y miel descristaliza con tintura de propóleo), tres repeticiones totalizando nueve unidades experimentales. Se realizaron análisis químicos (pH, porcentaje de humedad, °Brix y a_w) y análisis microbiológicos (coliformes totales, aerobios mesófilos, hongos y levaduras. El estudio concluyó que la aplicación del descristalizado aumentó los valores de sólidos solubles, disminuyó la humedad, así como los recuentos de hongos y levaduras además mantuvo dentro de límites de la población de coliformes totales, así como mesófilos aerobios, actividad de agua y el pH de la miel. La adición de tintura de propóleo aumentó los valores de humedad y actividad de agua, disminuyó los sólidos solubles, así como los recuentos de hongos y levaduras además mantuvo dentro de límites de la población de coliformes totales, así como mesófilos aerobios en la miel.

Palabras clave: aerobios mesófilos, coliformes totales, descristalizado, propóleo.

Abstract

Honey has a microbiota within its composition and changes depending on several factors, among these are the handling at the time of harvesting and processing. For this reason, must be assured that the product it is acquiring is under the required ranges to be considered safe for consumption. The objective of this study was to compare the influence of decrystallization and the addition of propolis on the chemistry and microbiological load of honey during its processing stages as propolized honey. A Randomized Complete Block Design (RCBD) was used, with three treatments (control honey, decrystallized honey and honey decrystallized with propolis), three replicates totaling nine experimental units. Chemical analysis (pH, moisture content, °Brix and aw) and microbiological analysis (total coliforms, mesophilic aerobes, yeasts and molds) were carried out. The study concluded that the application of decrystallization increased the values of soluble solids, decreased the humidity, as well as the counts of yeasts and molds. The levels of total coliforms, as well as mesophilic aerobes, water activity and the pH of the honey were maintained within limits. The addition of propolis increased the values of moisture and water activity, decreased the soluble solids, as well as the counts of yeasts and mold, and maintained within limits the population of total coliforms, as well as aerobic mesophiles in honey.

Keywords: decrystallized, mesophilic aerobes, propolis, total coliforms.

Introducción

El Codex Alimentarius (2019) define a la miel como una sustancia dulce natural producida por abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de las plantas. La apicultura representa una fuente de ingresos para la población que se encuentra establecida sobre regiones en plena vía de desarrollo, además de que se le atribuyen propiedades por sus características naturales y saludables, lo que permite ser una actividad rentable (FAO 2015). Hoy en día está en aumento la demanda de productos naturales y la miel es un alimento de origen natural y con beneficios para la salud del consumidor (Marketing4food 2022).

Las características fisicoquímicas y químicas (compuestos) de la miel dependen del origen del néctar recolectado por las abejas (Pineda Ballesteros et al. 2019), pero también se ve afectada por factores externos como el porcentaje de humedad, temperatura y tiempo de almacenamiento (Arroyo O y Arroyo C 2017). La incorrecta aplicación de las prácticas de higiene en el manejo de esta puede afectar al momento de garantizar la inocuidad para su consumo (Pros y Le Conte 2006). Es importante que los productores y procesadores del sector apícola se enfoquen en la calidad de la miel, pero esto no debe ser solo desde el punto de vista de las propiedades fisicoquímicas, sino también desde el aspecto de calidad microbiológica (Reyes R. 2012).

La miel también cuenta con compuestos químicos como flavonoides mismos que inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas, además contiene ácidos volátiles orgánicos, entre ellos se encuentra el ácido acético, fórmico y valérico. También posee ácidos no volátiles siendo los de mayor importancia el ácido glucónico el cual es producido por la glucoxidasas, el ácido maleico y el ácido cítrico (Márquez et al. 2015).

Uno de los cambios notables en la miel es la cristalización de los azúcares que constituyen su composición (Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos 1980). La relación en la concentración de glucosa y fructosa es determinante en este cambio, siendo la primera la causante y la segunda un inhibidor de la cristalización, sin embargo, la temperatura de almacenamiento y la humedad también

tienen efecto sobre esta (Fattori 2004). El descristalizado es un tratamiento térmico aplicado para aumentar la vida de anaquel. Consiste en la aplicación de temperaturas no mayores a 50 °C con un tiempo de 15 a 20 minutos para no alterar las características sensoriales y químicas de la miel como es la producción de Hidroximetilfurfural (HMF) (Murillo L. 2015).

El propóleo, según la norma salvadoreña NSO 65.19.02:03 CONACYT (2001) , es una sustancia resinosa producida por los árboles en la parte del tronco y sus brotes, esta es recolectada por las abejas y modificada con sus secreciones salivales. Este producto apícola es usado como una defensa química ante microorganismos y para embalsamar a intrusos que mueren dentro de la colmena (Rodríguez Pérez et al. 2020). La composición química del propóleo es considerada compleja, estudios realizados describen más de 150 compuestos donde se puede encontrar que 50 % son aceites esenciales y el 78% sustancias volátiles (Padrón et al. 2019). Los compuestos fenólicos son bioactivos encontrados en propóleos, no obstante, la concentración de estos depende en gran manera de su procedencia (Castillo y Chipatecua 2016), las propiedades que se le atribuyen acorde con la actividad biológica son: antioxidante, antibacteriano, antifúngico y antiviral (Martínez et al. 2005).

La miel propolizada es un producto obtenido a partir de 3 hasta 10% la adición de tintura de propóleo a la miel de abeja. La tintura de propóleos se obtiene luego de filtrar la mezcla reposada de propóleo y alcohol etílico (grado alimenticio). El producto del filtrado se considera un extracto de los compuestos bioactivos del propóleo crudo.

En la elaboración de alimentos es importante tener en cuenta que la manipulación es un factor clave debido a que es uno de los mayores riesgos de contaminación al momento del procesamiento de la miel (Cordonez E. 2021).

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo:

Determinar el efecto por la aplicación del descristalizado en propiedades químicas y microbiológicas de la miel y evaluar el efecto por la adición de tintura de propóleos en las propiedades químicas y microbiológicas de la miel.

Materiales y Métodos

Ubicación

El estudio fue llevado a cabo en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano en el Valle del Yeguaré, municipio de San Antonio de Oriente, km 30 carretera a Danlí. Los análisis microbiológicos se efectuaron en el Laboratorio de Análisis Microbiológicos de Zamorano (LMAZ), la preparación de los tratamientos y análisis fisicoquímicos se realizaron en la Planta Apícola y el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ).

Obtención de la Materia Prima

Las muestras de miel de abeja y la tintura de propóleo fueron obtenidas en la Planta Apícola de Zamorano, cosechada en abril del 2021. La tintura de propóleo se elaboró a partir de la relación 20% propóleo y 80% alcohol de grado alimenticio, se dejó reposar durante 5 días y finalmente se filtró.

La vegetación predominante en Zamorano y zonas aledañas (Anexo C) muestra el posible origen de la miel y el propóleo cosechado.

Procesamiento de la Miel Propolizada

Los tratamientos (Cuadro 1) (Anexo A) fueron preparados acorde el Manual de Buenas Prácticas de Manufactura (2022) de la planta apícola de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, la primera muestra de miel fue obtenida directamente de los barriles y no pasó por ningún tipo de proceso. La segunda muestra de miel se le aplicó un tratamiento térmico con 45 a 50°C durante 15 minutos (descristalizado) y finalmente se tomó una porción de miel descristalizada para preparar la tercera muestra que fue la mezcla de miel descristalizada más tintura de propóleo (95% miel y 5% tintura), el flujo de proceso mostrado en el Anexo D.

Cuadro 1

Descripción de los tratamientos con miel de abeja.

Tratamientos	Descripción
1	Miel sin procesar (testigo)
2	Miel descristalizada
3	Miel propolizada

Análisis Físicoquímicos

Actividad de Agua (a_w)

La actividad de agua se evaluó haciendo uso del equipo Aqualab® de acuerdo con la AOAC 978.18 por triplicado para cada muestra. Se calibró mediante soluciones ya establecidas a un rango de 0.5-0.7 cercanas a la actividad de agua de la miel. También se realizó en la tintura de propóleo y se calibró a 0.984.

Humedad (%)

Este análisis se realizó por triplicado en cada muestra de acuerdo con la AOAC 969.38B haciendo uso de los equipos Pocket Digital Refractometer 300050 y Digital Hand-held "Pocket" Honey Moisture Refractometer ATAGO en las instalaciones de la Planta Apícola. También se realizó la medición de humedad en la tintura de propóleo mediante el equipo Moisture Analyzer HC103.

Potencial de Hidrógeno (pH)

Para la medición de pH se utilizó el equipo Large Display pH, el cual fue calibrado con diferentes buffers (4, 7 y 10), luego se introdujo el electrodo en la muestra, se capturó el resultado y se enjuagó con agua destilada en cada una de las muestras. Lo anterior se realizó por triplicado por tratamiento en cada repetición.

Sólidos Solubles (°Brix)

El contenido de sólidos solubles fue evaluado utilizando el equipo Pocket Digital Refractometer 300050® de acuerdo con la AOAC 983.17 donde se tomó aproximadamente un 1 gramo de cada muestra y se realizó la lectura correspondiente. La evaluación se realizó en las instalaciones de la Planta Apícola y fue por triplicado en cada uno de los tratamientos.

Análisis Microbiológicos

Se realizó el análisis microbiológico preparando muestras donde se tomó 10 gramos de cada tratamiento y se agregaron a 90 mililitros de buffer de fosfato, consecuentemente se procedió a homogeneizarlo mediante el equipo “Stomacher SEWARD 400 circulator” lo que nos dio como resultado la primera dilución (10^1). Para realizar la segunda dilución se tomó 1 mL de la (10^1), agregándolo dentro de un tubo con 9 mL de buffer, se colocó y homogenizó en el Vortex® durante 15 segundos consiguiendo la dilución (10^2), posteriormente se repitió el procedimiento con (10^2) para obtener la dilución (10^3). Se inocularon las diluciones usando la técnica de vaciado en placa para coliformes totales en Agar Bilis Rojo Violeta y mesófilos aerobios en Agar Cuenta Estándar, se incubaron a 35°C durante 24 y 48 horas respectivamente. Para hongos y levaduras se inocularon en Agar Rosa de Bengala con Cloranfenicol, se incubaron a temperatura ambiente (25°C) durante 5 días. Todos los análisis se realizaron por triplicado. Se realizó el conteo y los resultados obtenidos se expresaron en Log UFC/g, se tomó de referencia los parámetros expresados en el Anexo B .

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) para evaluar los tres tratamientos (Cuadro 1), con tres repeticiones, obteniendo un total de nueve unidades experimentales. El programa estadístico con el que se llevó a cabo el análisis fue “Statistical Analysis System” SAS® 9.4 y se realizó la separación de medias con la prueba DUNCAN con un nivel de significancia del modelo igual a ($P < 0.05$).

Resultados y Discusión

Potencial de Hidrógeno (pH)

Haciendo referencia al Cuadro 2 podemos observar que no hubo diferencias significativas respecto a los valores de pH entre los tratamientos ($P > 0.05$), el descristalizado ni la adición de tintura de propóleo provocan cambios en el pH de la miel. El propóleo tiene un pH que ronda entre 3.2 a 4.5 (Castro Navarro 2017), y la miel ronda en un rango de pH aproximado de 3.5 a 4.5 y depende del origen floral del que fue recolectado el néctar (Pineda Ballesteros et al. 2019).

Cuadro 2

Resultado de análisis químicos: valores de pH de la miel de abeja.

Tratamiento	Media \pm D.E.
Miel sin procesar	3.50 \pm 0.07 ^A
Miel descristalizada	3.52 \pm 0.19 ^A
Miel propolizada	3.62 \pm 0.11 ^A
CV%	1.96

Nota. A = Medias con misma letra indica que no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos ($P > 0.05$). D.E. Desviación Estándar.

C.V (%) Coeficiente de Variación.

Acorde con, Insuasty Santacruz et al. (2016) y Leyva Moguel (2017) el pH depende de los ácidos orgánicos que se encuentran dentro de la composición de la miel, el suelo y las sustancias mandibulares de las abejas que recolectaron el néctar. Asimismo, el pH es un factor importante en el crecimiento de microorganismos, siendo el rango óptimo de 6.0-8.5 (Cervantes *et al.* 2017), los valores de pH obtenido de los tratamientos se mantuvieron bajos por lo que se consideró una barrera para los microorganismos.

Humedad (%), Sólidos Solubles (Grados Brix) y Actividad de Agua (a_w)

En el Cuadro 3 muestra que los resultados obtenidos del análisis de humedad, sólidos solubles y actividad de agua, se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos ($P < 0.05$). Se observó que, el proceso de descristalización mantuvo el a_w redujo el contenido de humedad, pero aumentó contenido de sólidos solubles con respecto a la miel sin procesar mientras que la adición de

la tintura de propóleo incrementó el contenido de humedad y a_w , pero disminuyó el contenido de sólidos solubles de la miel. El descenso de la humedad se dio por el tratamiento térmico empleado para la descristalización (45 a 50°C por 15 minutos), este resultado se relacionó con la investigación realizada por López R. (2014) donde se aplicaron tratamientos térmicos a diferentes rangos de temperatura a la miel y se pudo observar que la humedad se redujo posterior a su aplicación. La humedad de la tintura de propóleo de Zamorano fue de 96.19% por lo que al momento de agregarla a la miel descristalizada esta aumentó de 16.73 a 20.93%.

No se observaron cambios en la actividad de agua entre la miel sin procesar y la miel descristalizada debido a que antes de aplicar el tratamiento térmico (45 a 50°C por 15 minutos) esta estaba cristalizada. La cristalización en la miel permite que el agua se libere, aumentando el porcentaje de humedad, sin embargo, la actividad de agua no se vio afectada debido a la concentración de sólidos solubles, mismos que llegan a un punto de equilibrio con la a_w donde no se puede reducir más (Murillo L. 2015). Por lo tanto, el descristalizado eliminó la humedad, pero mantuvo la actividad de agua estable.

La a_w de la tintura de propóleo fue de 1 y la miel descristalizada 0.53, esto ocasionó un aumento de la actividad de agua al momento de mezclarse, obteniendo 0.65 en la miel propolizada.

Cuadro 3

Resultado de análisis químicos: humedad (%), sólidos solubles y Actividad de agua (a_w) de la miel.

Tratamiento	Humedad (%) Media \pm D.E.	Sólidos Solubles Media \pm D.E.	Actividad de agua Media \pm D.E.
Miel sin procesar	18.96 \pm 1.25 ^B	78.90 \pm 1.41 ^B	0.55 \pm 0.042 ^B
Miel descristalizada	16.73 \pm 1.15 ^C	81.50 \pm 1.47 ^A	0.53 \pm 0.048 ^B
Miel propolizada	20.93 \pm 1.38 ^A	76.81 \pm 1.12 ^C	0.65 \pm 0.03 ^A
CV%	2.01	0.50	4.19

Nota. ABC= Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre los tratamientos (P <0.05). C.V (%) = Coeficiente de Variación D.E.

Desviación Estándar

La humedad de la miel oscila entre el 15-21% (Mohtar et al. 2011) por lo que podemos decir que la miel que procesa la planta apícola cuenta con una buena calidad pues no rebasa los límites establecidos de 20% en el Codex Alimentarius (2019).

Los grados °Brix o sólidos solubles de la miel dependerá del porcentaje de humedad contenida debido a que esta es inversamente proporcional a la cantidad de °Brix (López R. 2014). Datos similares obtuvo Aguilar Piedra (2021) y C.E. Hernandez Lodono et al. (2015), mismos que sometieron a tratamientos térmicos mostrando resultados de disminución del porcentaje de humedad contenida en la miel y consecuentemente un aumento en la concentración de sólidos solubles.

La actividad de agua también se le conoce como la parte acuosa disponible o libre para efectuar reacciones ya sean biológicas o químicas (Aguilar Piedra 2021). Las moléculas de glucosa en la miel interactúan con las moléculas del agua por medio de los grupos -OH, al cristalizarse generan una capa monohidratada y las moléculas restantes son puestas en libertad pasando a ser agua libre (Lazcano Hernandez et al. 2012).

La temperatura de descristalizado entre los 40-50°C muestran que el comportamiento de la a_w se mantiene estable con rangos de 0.52-0.54 (Lazcano Hernandez et al. 2012). Concuera con los resultados obtenidos por Tuyuc C. (2013), donde aplicó diferentes tiempos de descristalizado a temperatura de 50°C, no ocasionó pérdidas significativas de a_w con un promedio de 0.56 entre los tratamientos. Similares a los resultados obtenidos en este estudio, mismos que no se encuentran dentro de los rangos que permiten el crecimiento de microorganismos (Cordonez E. 2021).

Coliformes Totales

Independientemente de los tratamientos evaluados, se reportó ausencia en de coliformes totales (<10 UFC/g), lo cual cumple con los valores establecidos por la Norma Salvadoreña NSO (2008) la cual indica que debe referir con ausencia tanto para coliformes totales y fecales. La ausencia de estos microorganismos indica que no existió contaminación tanto en la cosecha, extracción y procesamiento de la miel. Las buenas prácticas apícolas son las responsables de esto debido a que

están encaminadas al aseguramiento de la inocuidad y engloban todas las etapas de proceso desde la cosecha hasta la obtención del producto final (Vásquez et al. 2015).

El estudio realizado por (Castro Navarro) en el (2017) confirma que la miel posee un efecto antibacteriano debido a las propiedades fisicoquímicas como el bajo pH (3.2 a 4.5), a_w (0.5) y compuestos presentes como fenoles, sin embargo, estos dependerán de la procedencia del néctar recolectado.

La temperatura óptima para el crecimiento de coliformes varía entre 35 – 37°C (Fernández et al. 2006) y la temperatura de descristalizado fue de 45 – 50°C por lo que también pudo ser un factor que limitó el crecimiento de estos microorganismos.

Los flavonoides del propóleo no son los marcadores químicos más importantes, pero son los que se encuentran en mayor cantidad y se involucran en la actividad biológica (Talero et al. 2012). El sinergismo entre flavonoides y ácidos fenólicos causan una desorganización de la membrana citoplasmática y la pared celular bacteriana e inhibe la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas (Fuentes Feria et al. 2021). La inhibición del crecimiento se pudo deber a la ruptura de su DNA causado por el bloqueo del complejo de aminoacil transferasa alterando la síntesis de ácido nucleico (Balbuena 2012).

Mesófilos Aerobios

En el Cuadro 4 se puede observar que no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos en el recuento de mesófilos aerobios ($P>0.05$). Según Reyes R. (2012) los mesófilos aerobios crecen óptimamente en un rango de temperatura de 30 a 45°C y en este estudio la descristalización que se aplicó fue mayor a los 45°C. La temperatura de descristalizado interactuando con presencia de compuestos fenólicos, la baja humedad y el bajo pH pudieron permitir mantener la carga microbiana inicial en las diferentes etapas del proceso de miel.

Los mesófilos aerobios son considerados como indicadores microbiológicos de la calidad de los alimentos (Ferrer Vera y Morales Petersen 2005). Por lo que la carga inicial contenida en la miel

puede ser causada por diversos factores, entre ellos, la ubicación de las colmenas, la manipulación durante la cosecha y la relación tiempo-temperatura en almacenamiento (Hernández et al. 2015).

Cuadro 4

Resultado de análisis microbiológicos: recuento de mesófilos aerobios de la miel.

Tratamiento	(Log ₁₀ UFC/g) ± D.E.
Miel sin procesar	2.64 ± 0.66 ^A
Miel descristalizada	2.47 ± 0.88 ^A
Miel propolizada	2.90 ± 0.45 ^A
CV%	23.98

Nota. A = Medias con misma letra indica que no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos (P>0.05). D.E. Desviación Estándar.

C.V (%) Coeficiente de Variación.

Los resultados obtenidos de los tratamientos cumplieron con los valores máximos establecidos por la Norma salvadoreña 67.19.01:08 CONACYT (2001) y el RTCR (2009), mismos que indican <4 Log UFC/g para recuentos de mesófilos aerobios en miel por lo que se puede considerar apta para su consumo sin representar un riesgo.

Los compuestos del propóleo interactúan de manera inhibitoria en el crecimiento de microorganismos como son los mesófilos aerobios, ejemplo de dichos compuestos flavonoides se enumeran la pinocembrina, galangin y el éter bencil (Manrique 2006).

Hongos y Levaduras

El Cuadro 5 muestra que se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos en los recuentos de hongos y levaduras (P < 0.05), esto debido a la sinergia entre descristalizado, pH y actividad de agua, mismos que provocaron un descenso en los recuentos en la miel descristalizada. La adición de tintura de propóleo no afectó el recuento de hongos y levaduras, y se mantuvo constante con la miel descristalizada.

Estos microorganismos son indicadores de las condiciones ambientales, la presencia de estos en la miel se atribuye a la mala aplicación de las prácticas de higiene durante la cosecha, almacenamiento y procesamiento; un mal control en la temperatura de exposición del producto y

procesos deficientes de sanitización de superficies inertes aumentan los recuentos (Hernández et al. 2015).

Cuadro 5

Resultado de análisis microbiológicos: recuentos de hongos y levaduras de la miel.

Tratamiento	(Log ₁₀ UFC/g) ± D.E.
Miel sin procesar	2.04 ± 0.95 ^A
Miel descristalizada	0.8 ± 0.17 ^B
Miel propolizada	1.1 ± 0.34 ^B
CV%	33.8

Nota. AB= Medidas con letras diferentes indican diferencias estadísticas entre los tratamientos (P<0.05). C.V (%) = Coeficiente de Variación

D.E. Desviación Estándar.

Gock MA, Hocking AD, Pitt JI, Poulos PG. (2003), reportaron la influencia del pH, a_w y temperatura en el crecimiento de hongos y levaduras, donde los rangos óptimos de crecimiento fueron 4.5-5.5, 0.89-0.92 y 25-37°C respectivamente, se mostró que valores inferiores pueden retardar e inhibir el crecimiento. Los rangos de pH y a_w obtenidos en este estudio y la temperatura aplicada en el descristalizado fueron 3.50-3.62, 0.55-0.65 y 45-50°C respectivamente, mismos que se encontraban fuera de las condiciones mínimas para el crecimiento de hongos y levaduras. El descristalizado fue el causante de alteraciones en las propiedades fisicoquímicas de la miel sin procesar generando una sinergia entre estas, mismas que propiciaron la reducción en los conteos. Además, la miel cuenta con una buena propiedad antifúngica (Estrada et al. 2005). Misma que se confiere debido a varios factores que se encuentran en sinergia, entre ellos el contenido de ácidos fenólicos, flavonoides y otras biomoléculas, siendo los compuestos fenólicos los que presentan mayor actividad biológica por su capacidad tensoactiva y de desnaturalización de proteínas (Moussa et al. 2012). Por lo que también tuvo influencia en los conteos posteriores al descristalizado, manteniéndolos dentro del rango aceptable ($<1 \times 10^2$ UFC/g).

Estudio realizado por Álvarez, D et al. (2004), indica que las concentraciones de propóleo al 5% afectan en el crecimiento de hongos y levaduras presentes en la miel. De acuerdo con Salamanca en el 2017, el propóleo cuenta con propiedades fungistáticas debido a la presencia de sesquiterpenos

y flavonas. Actualmente no se ha demostrado que la actividad biológica sea causada por un compuesto de manera individual, sino a la acción sinérgica entre diferentes compuestos característicos de cada propóleo (Joya et al. 2017). La actividad fungistática se define como aquella propiedad de un agente o compuesto de reducir, más no eliminar el crecimiento de un hongo (Graybill 2004).

Conclusiones

La aplicación del descristalizado aumentó los valores de sólidos solubles, disminuyó la humedad, así como los recuentos de hongos y levaduras además mantuvo dentro de límites de la población de coliformes totales, así como mesófilos aerobios, actividad de agua y el pH de la miel.

La adición de tintura de propóleo más el descristalizado aumentó los valores de humedad y actividad de agua, disminuyó los sólidos solubles, así como los recuentos de hongos y levaduras además mantuvo dentro de límites de la población de coliformes totales, así como mesófilos aerobios en la miel.

Recomendaciones

Realizar una caracterización de compuestos químicos del propóleo recolectado en Zamorano para determinar cuáles de estos se encuentran presentes en mayor concentración ya que estos varían dependiendo del tipo de vegetación encontrada en la zona.

Realizar un estudio tomando en cuenta diferentes humedades, tiempos y temperaturas de almacenamiento con la miel propolizada para evaluar el cambio en las características fisicoquímicas y microbiológicas.

Evaluar el efecto de la miel propolizada de Zamorano en diferentes tipos de microorganismos (*Salmonella*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*) presentes en alimentos y determinar si provoca un halo de inhibición en su crecimiento.

Referencias

- Aguilar Piedra YL. 2021. Efecto de la pasteurización en propiedades químicas, microbiológicas y sensoriales de la miel de abeja melipona (*Tetragonisca angustula*) [Tesis de pregrado]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. 41 p; [consultado el 28 de jul. de 2022]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/3b93ac02-612e-423a-8406-3ef6b0089840/content>.
- Álvarez, D, Castañeda M, Montero N, Rodríguez A, Rodríguez Y, Pineda J. 2004. Aplicación del propóleo de abejas (*Apis mellifera*) para el control de la antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, patógeno en frutos de ... [sin lugar]: [sin editorial].
- Arroyo O, Arroyo C. 2017. Arroyo Cajacuri - Arroyo Cajacuri [Tesis]. Perú: Universidad Nacional del Centro del Perú. 187 p; [consultado el 28 de jul. de 2022]. <https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/4772/Arroyo%20Cajacuri%20-%20%20Arroyo%20Cajacuri.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Balbuena V. 2012. Evaluación del efecto antimicrobiano de flavonoides obtenidos de extractos de hojas de *Tamarindus indica* Lin. *Multi Med*. 16(1). <http://www.revmultimed.sld.cu/index.php/mtm/article/view/517/846>.
- C.E. Hernandez Lodono, A.R. Correa, M. Quicazan. 2015. Effect of the Tyndallization on the Quality of Colombian Honeys. 1. 43:19–24. en. <https://www.cetjournal.it/index.php/cet/article/view/4771>. doi:10.3303/CET1543004.
- Castillo D, Chipatecua F. 2016. Efecto de la Localización Geográfica y el Método de Recolección en la Producción de Propóleo Crudo de Colmenas de *Apis Mellifera* sobre Indicadores de Calidad Físicoquímicos y Microbiológicos, en la Provincia del Sumapaz, Cundinamarca [tesis pregrado]. Colombia: Universidad de Cundinamarca. 91 p; [consultado el 28 de jul. de 2022]. <https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/bitstream/handle/20.500.12558/194/Efecto%20de%20la%20localizaci%3bn%20geogr%3a1fica%20y%20el%20m%3a9todo%20de%20recolecci%3bn%20en%20la%20producci%3bn%20de%20prop%3b3leo%20crudo%20de%20colmenas%20de%20Apis%20mellifera%20sobre%20indicadores%20de%20calidad%20fisisicoqu%3admicos%20y%20microbiol%3bn%3gicos%20en%20la%20provincia%20de%20Sumapaz%2c%20Cundinamarca.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Castro Navarro EP. 2017. Efecto antibacteriano de miel de *Apis mellifera* y algarrobina de *Prosopis pallida* sobre coliformes en quesillos preparados artesanalmente expandidos en el mercado “La Unión” - Trujillo [Tesis pregrdo]. Perú: Universidad César Vallejo. spa. <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/11387>.
- Codex Alimentarius. 2019. Norma para la Miel. [sin lugar]: [sin editorial]. 8 p. (CXS 12-1981). 2019; [actualizado 2019; consultado el 29 de jul. de 2022]. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B12-1981%252FCXS_012s.pdf.
- [CONACYT] Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. 2001. Miel de Abejas Especificaciones (Segunda Actualización). [sin lugar]: [sin editorial]. 12 p. (ICS 67.180). 2001; [actualizado 2001; consultado el

- 29 de jul. de 2022]. <https://www.defensoria.gob.sv/images/stories/varios/NORMAS/PRODUCTOS%20APICOLAS/NSO67.19.01.08%20MIEL%20DE%20ABEJA.pdf>.
- Cordonez E. SS. 2021. Efecto del corte del panal en la microbiología de la miel de abeja (*Apis mellifera*) [Tesis Pregrado]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. spa. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/6983>.
- Estrada H, Gamboa M, Chaves C, Arias M. 2005. Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ... Scielo. 55(2). http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0004-06222005000200010.
- Fattori SB. 2004. "LA MIEL" Propiedades, Composición Y Análisis Físico- Químico. Argentina: Universidad de Buenos Aires. https://www.apiservices.biz/documents/articulos-es/la_miel_propiedades_composicion_y_analisis_fisico-quimico.pdf.
- Fernández A, Izquierdo P, Valero K, Allara M, Piñero M, García A. 2006. Efecto del tiempo y temperatura de almacenamiento sobre la calidad microbiológica de carne de hamburguesa. [sin lugar]. http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=s0798-22592006000400013&script=sci_arttext.
- Ferrer Vera P, Morales Petersen M. 2005. Determinación de la calidad microbiológica de la miel [Tesis doctorado]. Uruguay: Universidad de la Republica. es. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/19309>.
- Fuentes Feria E, Toraño Peraza GT, Velar Martínez RE, Rodríguez Rodríguez LE, Barreto Núñez B, Baly Gil A. 2021. Actividad antimicrobiana del Propol-5, un extracto etanólico de propóleos cubano. *Revista Cubana de Farmacia*. 54(4):1–17. es. <http://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/590>.
- Gock MA, Hocking AD, Pitt JI, Poulos PG. 2003. Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. *International Journal of Food Microbiology*. 81(1):11–29. doi:10.1016/S0168-1605(02)00166-6.
- Graybill JR. 2004. Resistencia a los medicamentos antifúngicos. Mecanismos de acción y su impacto en la práctica clínica. *Medwave*. 4(7). doi:10.5867/medwave.2004.07.3613.
- Hernández C, Ascencio D, Correa A, Quicazán M. 2015. Evaluación de la calidad microbiológica de miel de *tetragonisca angustula* durante el almacenamiento [Tesis pregrado]. Colombia: Unal. http://investigacion.bogota.unal.edu.co/fileadmin/recursos/direcciones/investigacion_bogota/documentos/enid/2015/memorias2015/ingenieria_tecnologias/evaluacion_de_la_calidad_microbiologica_de_.pdf.
- Insuasty Santacruz E, Martínez Benavides J, Jurado Gámez H. 2016. Identificación de flora y análisis nutricional de miel de abeja para la producción apícola. *BSAA*. 14(1):37–44. doi:10.18684/BSAA(14)37-44.
- Joya M, Gil M, Bastidas G. 2017. Fungistatic and fungicidal activity ethanolic propolis extracts on the in vitro growth of strains of *Candida*. *Tecnología en Marcha*. 30(3). https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=s0379-39822017000300003&script=sci_arttext&tIng=en.
- Lazcano Hernandez M, Portillo Moreno O, Pereira D, Ronquillo Téllez A. 2012. Determinación de propiedades termofísicas en diferentes mieles de abeja recolectadas en el Estado de Puebla. *Revista Verde de Agroecología e Desarrollo Sustentável*. 7(4):41. spa. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7422276>.

- Leyva Moguel K. 2017. Estudio de las propiedades físicas y químicas, actividad antioxidante y antimicrobiana de la miel líquida y microencapsulada de *Scaptotrigona pectoralis* [Tesis maestría]. México: Instituto Tecnológico de Mérida. <http://51.143.95.221/handle/tecnm/1772>.
- López R. AM. 2014. Efecto de la humedad de la miel y temperatura de descristalizado en la calidad de la miel procesada. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. spa. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/3356>.
- Manrique A. 2006. Actividad antimicrobiana de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del estado Miranda, Venezuela. Efecto de la variación estacional. *Zootecnia Tropical*. 24(1). http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=s0798-72692006000100004&script=sci_arttext.
- Marketing4food. 2022. Los productos naturales continúan marcando tendencia en el mundo. Murcia: [sin editorial]; [consultado el 12 de ago. de 2022]. <https://www.marketing4food.com/marketing4food/los-productos-naturales-continuan-marcando-tendencia-en-el-mundo/>.
- Márquez E, Del Toro CL, Ocaño VM, Ezquerro JM, Ramírez JA, Uresti RM. 2015. Análisis, Calidad y Procesamiento de Alimentos en México. Madrid, España: Plaza y Valdés. ISBN: 978-607-402-821-8.
- Martínez JM, Fajardo M, Pérez JC. 2005. Obtención de Tintura de Propóleos en las Plantas de Productos Naturales. *Revista CENIC Ciencias Químicas*. 36(Especial). <https://www.redalyc.org/pdf/1816/181620511011.pdf>.
- Mohtar L, Hernández N, Maidana J, Leal I, Yegres F. 2011. Evaluación de la calidad de las mieles expandidas en Coro, estado Falcón, Venezuela. *Multiciencias*. 11(3):225–234. <https://www.redalyc.org/pdf/904/90421736002.pdf>.
- Moussa A, Noureddine D, Saad A, Abdelmelek M, Abdelkader B. 2012. Antifungal activity of four honeys of different types from Algeria against pathogenic yeast: *Candida albicans* and *Rhodotorula* sp. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(7):554–557. doi:10.1016/S2221-1691(12)60096-3.
- Murillo L. KP. 2015. Evaluación del método de descristalizado en las características físicas, químicas y sensoriales de la miel de abeja (*Apis mellifera*) [Tesis pregrado]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. spa. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/4642>.
- Padrón AA, Naranjo A, Díaz JJ, Llera RE. 2019. El propóleo una alternativa de todos los tiempos. [sin lugar]: Universidad Pinar del Río; [actualizado el 5 de jul. de 2022; consultado el 12 de ago. de 2022]. https://www.researchgate.net/publication/330289548_El_propoleo_una_alternativa_de_todos_los_tiempos.
- Pineda Ballesteros E, Castellanos Riveros A, Téllez Acuña FR. 2019. Determinantes físicoquímicos de la calidad de la miel: una revisión bibliográfica. *Cuad. Des. Rural*. 16(83). doi:10.11144/Javeriana.cdr16-83.dfc.
- Reyes R. HD. 2012. Efecto de la pasteurización y proveedor apícola en las características microbiológicas y químicas de la miel de abeja [Tesis pregrado]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. spa. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/1012>.
- Rodríguez Pérez B, Canales Martínez MM, Penieres Carrillo JG, Cruz Sánchez TA. 2020. Composición química, propiedades antioxidantes y actividad antimicrobiana de propóleos mexicanos. *Acta Universitaria*. 30:1–30. doi:10.15174/au.2020.2435.

- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1980. Miel de Abeja. Especificaciones. Norma Mexicana. México: [sin editorial] (NMX-F-036-981). 1980; [actualizado 1980; consultado el 12 de ago. de 2022]. <https://atlasnacionaldelasabejasmx.github.io/atlas/pdfs/NMX-F-036-1981.PDF>.
- Talero C, Hernandez D, Figueroa J. 2012. Calidad microbiológica de propóleo crudo y sólidos solubles de extractos de propóleos de *apis mellifera* en Colombia. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 59(2):109–118. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/72274>.
- Tuyuc C. LE. 2013. Efecto del tiempo de descristalizado en las características fisicoquímicas de la miel Zamorano [Tesis pregrado]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. spa. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/1831>.
- Vásquez RE, Camargo ER, Ortega NC, Maldonado WD. 2015. Implementación de buenas prácticas apícolas y mejoramiento genético para la producción de miel y polen. Bogotá (Colombia): Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. <http://hdl.handle.net/11438/8794>.

Anexos**Anexo A**

Tratamientos de miel sin procesar, descristalizada y propolizada



Anexo B

Parámetros microbiológicos para miel de abeja

Microrganismo	CONACYT*	RTCR**	Norma Mexicana***
Coliformes totales	Ausencia	<3 NMP/g	Ausencia
Aerobios mesófilos	<1 x 10 ⁴ UFC/g	<1 x 10 ⁴ UFC/g <1	<1 x 10 ³ UFC/g
Hongos y levaduras	<1 x 10 ² UFC/g	x 10 ² UFC/g	<1 x 10 ² UFC/g

Nota. Datos tomados de *CONACYT (2008) **RTCR 423: 2009. Reglamento técnico para miel de abeja SENASA ***Norma Oficial Mexicana

NMX-F-36-NORMEX-2006

Anexo C

Vegetación predominante en el Apiario: Local (AL), Monte Redondo (MR) y Pantanal (P)

Localidad	Nombre Científico	Nombre Común
AL	<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalipto
	<i>Labill Guarea sp.</i>	Carbón
	<i>Pinus patula</i>	Ocote
	<i>Araucaria araucana</i>	Araucaria
MR	<i>Guarea sp.</i>	Carbón
	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Guanacaste
	<i>Guaiacum officinale</i>	Guayacán
	<i>Acacia Xanthophloea Eucalyptus globulus Labill</i>	Acacia amarilla
		Eucalipto
P	<i>Acacia Xanthophloea</i>	Acacia
	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Guanacaste
	<i>Bursera cuneata</i>	Bursera
	<i>Aspidosperma dugandii</i>	Carreto
	<i>Guarea sp.</i>	Carbón
	<i>Teutona grandis</i>	Teca
	<i>Eucalyptus globulus Labill</i>	Eucalipto

Nota. Datos tomados de Yoong (2004)

Anexo D*Flujo de proceso de la miel*