

Universidad Nacional

Sistema de Estudios de Posgrado (SEPUNA)

Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT)

Maestría en Apicultura Tropical (MAT)

Caracterización fisicoquímica de muestras de miel de *Apis mellifera*, comercializada en la zona occidental de la Gran Área Metropolitana (GAM) de Costa Rica.

Ing. Víctor Alfonso Deras López

Trabajo presentado para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical. Cumple con los requisitos establecidos por el Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional.
Heredia. Costa Rica.

Campus Pbo. Benjamín Núñez

Heredia, Costa Rica

Agosto, 2021

UNIVERSIDAD NACIONAL

Sistema de Estudios de Posgrado (SEPUNA)

Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT)

Maestría en Apicultura Tropical (MAT)

Caracterización fisicoquímica de muestras de miel de *Apis mellifera*, comercializada en la zona occidental de la Gran Área Metropolitana (GAM) de Costa Rica.

Ing. Víctor Alfonso Deras López

Trabajo presentado para optar al grado de máster en Apicultura Tropical. Cumple con los requisitos establecidos por el Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional.
Heredia, Costa Rica.

Campus Pbo. Benjamín Núñez

Heredia, Costa Rica

Agosto, 2021

Tutores/ Asesores:

Natalia Fallas M, M.Sc.

Eduardo Umaña, M.Sc.

Este trabajo fue realizado bajo el auspicio del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT) de la Universidad Nacional de Costa Rica.

Agradecimientos

Quiero agradecer en primer lugar a Dios creador del universo por haberme dado la oportunidad de alcanzar esta meta, igualmente a mi familia que siempre está a mi lado, a todas las personas maravillosas que de una forma u otra contribuyeron a que esto sea posible.

A mis tutores Natalia Fallas y Eduardo Umaña por todo el esfuerzo y consejos brindados para realizar este trabajo.

A la Universidad Nacional de Costa Rica a través de (FUNDAUNA) y el fondo para el fortalecimiento de las capacidades estudiantiles en investigación (FOCAES) por su aporte económico para la compra de materiales e insumos.

Al personal de CINAT por todos los consejos y conocimientos brindados, a mis compañeros de promoción, a los apicultores de este país que pude conocer y compartir con ellos y en general a cada persona que me brindo su apoyo, mis más sinceros agradecimientos.

Dedicatoria

A mi madre María Antonia López, a mi esposa Nolvía Rodríguez, a mi hijo Emilio André a mis hermanos Ana María Deras, Milagro Deras, José David Deras, por su apoyo incondicional con cariño para ustedes.

INDICE

I. RESUMEN.....	VI
INDICE DE CUADROS	VII
INDICE DE FIGURAS.....	VIII
INTRODUCCION.....	1
Antecedentes	2
Justificación.....	2
OBJETIVOS.....	4
Objetivo General	4
Objetivos Específicos.....	4
3. HIPOTESIS	4
III. MARCO TEORICO	5
Calidad y origen de la miel	7
Propiedades fisicoquímicas de la miel	8
Contenido de agua o humedad.	8
Hidroximetilfurfural (HMF).....	8
Acidez	8
Enzimas	9
La adulteración de mieles de abeja	10
IV. MATERIALES Y METODOS.....	12
Sitio experimental	12
Unidad experimental	12
Metodología	13
El análisis del contenido de humedad o agua.....	14
El contenido de Hidroximetilfurfural	14
Análisis de acidez libre	14
Análisis de la actividad enzimática diastasa.....	14
Determinación de azúcares por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) ...	14
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF) y actividad enzimática de diastasa.	19
Azúcares simples (fructosa + glucosa).....	23
Sacarosa.....	23
Jarabes Altos en Fructosa.....	24

VI.	CONCLUSIONES.....	28
VII.	RECOMENDACIONES.....	29
VIII.	BIBLIOGRAFIA.....	30
IX.	ANEXOS.....	35

I. RESUMEN

Este estudio consistió en identificar y enlistar las marcas de miel de abeja oferentes a nivel de mercados centrales de la zona occidental de la Gran Área Metropolitana de Costa Rica, específicamente las ciudades de Alajuela, Heredia y San José, encontrándose un total de 29 marcas. Así mismo, se determinaron las características físico-químicas de aproximadamente el 50% de estas muestras.

Para determinar la calidad de las mieles se siguió el protocolo descrito en los Métodos Armonizados de la Comisión Internacional de la Miel (Bogdanov, 2009). Mientras que para determinar jarabes altos en fructosa se utilizó el método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplada a un índice de refracción (HPLC).

Con este trabajo se procuró conocer la calidad de la miel que se comercializa en el área urbana más poblada de Costa Rica, pues al ser un alimento de consumo humano es también un asunto de interés público.

Los resultados obtenidos en los análisis arrojaron que únicamente tres muestras correspondientes al 20 % cumplen con los parámetros de calidad establecidos por la Norma Nacional para la miel de abeja de Costa Rica, se determinó que tres muestras estaban adulteradas con jarabes altos en fructosa, otras cuatro fueron posiblemente adulteradas con jarabe invertido, tres muestras presentaron señales de calentamiento y malas prácticas de almacenamiento, una muestra provenía de mieles sobrecalentadas , y una muestra provenía de mieles posiblemente mezcladas.

INDICE DE CUADROS

Tabla 1. Reglamento técnico para la miel de abeja de costa rica	11
Tabla 2. Marcas de miel comercializadas a nivel de los mercados centrales de la gam	15
Tabla 3. Código asignado y procedencia de las muestras analizadas.	16
Tabla 4. Contenido de humedad y acidez libre obtenido en las muestras de miel analizadas	17
Tabla 5. Contenido de hidroximetilfurfural y actividad de diastasa presente en las muestras de miel de la gam.	19
Tabla 6. Contenido de azúcares simples, sacarosa y presencia de jarabes altos en fructosa de las muestras de miel comercializada en la gam.	23
Tabla 7. Porcentaje de las muestras de miel que cumplen con los parámetros de calidad según el reglamento para la miel de abeja de costa rica.	25
Tabla 8. Resultados de índice fructosa/glucosa y la condición de cada muestra de acuerdo a todo el conjunto de resultados obtenidos en su análisis respectivo.	26

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica de los mercados de donde proceden las muestras.	13
Figura 2. Distribución de las 15 muestras de miel de abeja según el contenido de humedad y acidez libre.	18
Figura 3. Comportamiento individual del hidroximetilfurfural en las 15 muestras analizadas	21
Figura 4. Comportamiento de hmf y actividad de diastasa en las muestras analizadas.	22
Figura 5. distribución de azúcares simples (fructosa + glucosa) y sacarosa de las muestras analizadas.	24
Figura 6. Mercado central de la ciudad de alajuela	35
Figura 7. Mercado municipal de heredia	36
Figura 8. Mercado central de san José	36

INTRODUCCION

El Codex Alimentarius (Codex Stan 12-1981) define la miel como “la sustancia dulce natural producida por abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje” (González Ulibarry,2019).

Los componentes más comunes que se encuentran en la miel son el agua (17,1%), azúcares (82,4%), proteínas (0,1%) y otros componentes que incluyen vitaminas, minerales, sustancias aromáticas y ácidos orgánicos, entre otros (0,4%). Además, se encuentra en ella cinco enzimas biológicamente activas: la invertasa, la diastasa, la glucooxidasa, la catalasa y una fosfatasa ácida (Ureña et al., 2007).

La variabilidad en los cerca de 400 componentes de la miel, ha hecho que los investigadores determinen rangos que estas sustancias deben cumplir, para garantizar su pureza y calidad a los consumidores (Dimi y Ilze, 2006; Vásquez, 2010).

Sin embargo, hay diferentes tipos de adulteración en la miel, por ejemplo: la dilución con diferentes jarabes fabricados artificialmente, por ejemplo: de maíz, azúcar de caña, azúcar de remolacha, arroz, trigo, entre otros. También, la cosecha de miel inmadura (antes de que las abejas hayan tenido la oportunidad de transformar el néctar en un producto que tiene los componentes químicos y la composición de miel auténtica) lo que puede generar la fermentación de la miel. Además de enmascarar o etiquetar mal el origen geográfico o botánico de la miel engañando al consumidor. Adicionalmente, la alimentación artificial de abejas durante un flujo de néctar con jarabes, pueden alterar la composición de la miel. (Declaración sobre el fraude de la miel APIMONDIA, 2020)

Antecedentes

En 2006 Ureña y Arrieta, realizaron un diagnóstico de la adulteración y mal procesamiento de mieles comerciales de origen costarricense al compararlas con otras obtenidas de apiarios nacionales, en el cual concluyeron que sólo seis (el 20%) de las muestras comerciales logra cumplir con los estándares internacionales, contrario a un 89% de las muestras provenientes directamente del apicultor nacional que sí se acoge a la normativa.

En 2018 el Ministerio de Economía, Industria y Comercio de Costa Rica (MEIC) realizó un estudio llamado Verificación de calidad, pureza y etiquetado en miel de abejas en el cual encontró una leve mejoría ya que, de cincuenta muestras analizadas, 16 de estas correspondientes al (32%) presentaron cumplimiento en materia de calidad, demostrando que aún queda mucho por mejorar en temas de calidad de miel.

Justificación

La miel es el principal producto de la apicultura, generado por la abeja *Apis mellifera*. Este como cualquier producto alimenticio, debe cumplir con ciertas normas de calidad, propiedades fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas. Entre estos parámetros se encuentran el contenido de Hidroximetilfurfural (HMF), indicador de adulteración, sobrecalentamiento y envejecimiento de la miel. Además de la actividad de la enzima diastasa, la cual es indicadora de sobrecalentamiento, y la determinación del contenido de sacarosa y azúcares simples, que son indicadores de adulteración (Ureña et al., 2007).

El Codex Alimentario (2001) señala: a) la miel vendida como tal no deberá contener ningún ingrediente adicional, incluidos los aditivos alimentarios, ni tampoco adición alguna que no sea miel, b) no deberá calentarse ni elaborarse la miel en medida tal que se modifique su composición esencial y/o se menoscabe su calidad y c) no se deberán utilizar tratamientos químicos o bioquímicos para influir en la cristalización de la miel.

Los estudios realizados en Costa Rica sobre calidad de miel o caracterización fisicoquímica no son tan frecuentes sumado a eso el apicultor pocas veces puede comercializar directamente su producto porque está muy alejado de los mercados, Por lo tanto, comercializadores mayoristas y minoristas son los que hacen la función de distribuir la miel de abeja desde el apicultor hasta el consumidor final. (Garry, 2017).

Por tanto, se hace necesario realizar este tipo de investigaciones para determinar la calidad de la miel que están consumiendo los habitantes de la región occidental de la GAM de Costa Rica.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar las características fisicoquímicas de muestras de miel de *Apis mellifera* comercializadas en mercados centrales de la Región Occidental de la Gran Área Metropolitana de Costa Rica.

Objetivos Específicos

1. Realizar un estudio de las marcas de miel ofertadas a través de visita personal en los negocios dispensadores de miel en los mercados centrales de las ciudades de Alajuela, Heredia y San José de Costa Rica para conocer la variedad disponible.
2. Medir mediante análisis fisicoquímicos la calidad de la miel de *Apis mellifera* comercializada en Alajuela, Heredia y San José, para determinar si estas cumplen con los parámetros requeridos por la Norma Nacional Costarricense.

3. HIPOTESIS

Un 50 % de la miel distribuida en mercados centrales de la GAM no cumple con los parámetros de calidad establecidos en la normativa nacional costarricense.

III. MARCO TEORICO

La producción de la miel de abeja en Costa Rica es importante debido a que, por un lado, es un bien que contribuye a la sana alimentación de los consumidores y, por otra parte, es una actividad económica en la que participan pequeños agricultores, cuyos ingresos familiares dependen de la venta de la miel y sus derivados (Morales Abarca, 2017).

Costa Rica cuenta con un exigente protocolo fitosanitario que protege la salud humana. Los requerimientos para establecer la planta de procesamiento y la dotación de equipo, entre otros componentes, demandan inversión y conocimiento técnico para obtener el producto final que puede ser miel pura, mieles saborizantes, entre otros. Muchos apicultores no disponen de las condiciones de infraestructura, equipamiento ni tecnología para realizar esta fase de la cadena productiva. (Garry, 2017).

Está bien documentado históricamente que la miel ha sido objeto de distintos tipos de fraude (Crane, 1990), sin embargo, las condiciones para este tipo de prácticas nunca antes han sido tan propicias:

1. La demanda mundial de miel está creciendo a un ritmo mayor que la producción mundial del producto puro (García, 2016 y 2018).
2. Se pueden obtener fuertes ganancias a través del fraude.
3. Los métodos de fraude de la miel cambian rápidamente.
4. El análisis de la miel es complejo.
5. El método oficial para la detección de adulteraciones en miel, EA-IRMS (AOAC 998.12), que mide la relación isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ por espectrometría de masa, no puede detectar los métodos de fraude con azúcares de tipo C3 (Zábrowská y Vorlová, 2014) dejando al mercado expuesto a un método desactualizado e inapropiado para la detección de los distintos tipos de fraude.

La maduración de la miel comienza con la recolección de néctar o mielato, su almacenamiento en el buche melario mientras la abeja completa su carga en el campo y durante su vuelo de regreso a la colmena (Nicolson y Human, 2008). La maduración de la miel incluye el proceso de secado, la adición de enzimas y otras sustancias propias de la abeja, el descenso del pH a través de la producción de ácidos en el estómago de la abeja y la transformación de sustancias propias del néctar o el mielato (Crane, 1990). Además, existe una población microbiana considerable en las etapas iniciales del proceso de maduración que podría estar involucrada en algunas de estas transformaciones, como la biosíntesis de carbohidratos (Ruiz y Rodríguez, 1975).

La transformación del néctar en miel es el resultado de miles de años de evolución de las abejas para lograr un suministro de alimento a largo plazo para su propio uso cuando no exista disponibilidad de alimentos en las inmediaciones de la colonia. Su bajo contenido de humedad, su elevada concentración de azúcares, su bajo pH y la presencia de diferentes sustancias antimicrobianas hacen de la miel un producto no fermentable y de larga duración para las abejas. Una eventual fermentación de las reservas de miel es un proceso indeseable para las abejas ya que se produce etanol, tóxico para ellas y que afecta su comportamiento de manera similar que a otros vertebrados (Abramson et al., 2000).

La miel se compone esencialmente de diferentes azúcares, sobre todo fructosa y glucosa, además de otras sustancias como ácidos orgánicos, minerales, aminoácidos, enzimas y partículas sólidas derivadas de la recolección del néctar. Los ácidos orgánicos presentes en la miel son los responsables de la acidez de la misma, su pH se sitúa entre (3,6 – 4,2). Algunos de estos ácidos provienen de los vegetales, producidos por el ciclo de oxidación biológico de Krebs, encontrándose finalmente en el néctar. El color de la miel varía de casi incoloro a pardo oscuro. Su consistencia puede ser fluida, viscosa y cristalizada total o parcialmente. El sabor y el aroma dependen de la planta de origen (Rico y Cáceres, 2018).

La normativa internacional para la comercialización de la miel, determina que solo puede ser mínimamente procesada por centrifugación y mínimo calentamiento, así como también por filtrado, si fuera necesario, para eliminar partículas extrañas en la miel, como pueden ser restos de cera y pequeños residuos de restos de abejas. En todo caso, no está permitido añadir ningún tipo de aditivo (Rico y Cáceres, 2018).

Calidad y origen de la miel

En el análisis de la frescura de la miel, los índices más utilizados para medir la frescura son el 5-hidroximetilfurfural (HMF) y la actividad diastásica. El HMF es un aldehído que se origina espontáneamente a partir de la fructosa natural presente en la miel en medio ácido, que se forma mediante proceso lento. Se calcula que el aumento de HMF en mieles es de 1 mg/kg por mes en climas suaves con temperatura máximas de 30°C. Se ha establecido reglamentariamente que el contenido máximo de HMF sea 40 mg/kg, con excepciones para mieles de origen tropical, en cuyo caso se admiten 80 mg/kg como máximo, debido a la humedad de dichos climas. Por otro lado, la diastasa es una enzima presente naturalmente en mieles frescas, cuyos niveles disminuyen durante el almacenamiento o calentamiento. (Rico y Cáceres, 2018).

Si hablamos directamente de adulteración, la fructosa y la glucosa son los dos indicadores del análisis de calidad de la miel que nos sirven para determinar si una miel ha sido adulterada. Estos indicadores se determinan por cromatografía líquida (HPLC). (Rico y Cáceres, 2018).

Como ya se sabe, los adulterantes más utilizados son jarabes de glucosa y fructosa, que pueden adaptarse para imitar el perfil de la miel y son generalmente difíciles de detectar, por esta razón la adición de una cantidad moderada de jarabe no produce una variación de los niveles de fructosa y glucosa que caigan fuera del rango normal de miel y no nos alerta de su posible adulteración (Rico y Cáceres, 2018).

Propiedades fisicoquímicas de la miel

La miel varía en su composición dependiendo de la fuente del néctar, las prácticas de manejo del apicultor, el clima y las condiciones ambientales.

Contenido de agua o humedad.

El contenido de humedad es una de las características más importantes de la miel y está en función de ciertos factores tales como los ambientales y del contenido de humedad del néctar. La miel madura tiene normalmente un contenido de humedad por debajo del 18.5% y cuando se excede de este nivel, es susceptible a fermentar, particularmente cuando la cantidad de levaduras osmofílicas es suficientemente alta. además, el contenido de agua en la miel influye en su viscosidad, peso específico y color, condicionando así la conservación y cualidades organolépticas de este producto (Ulloa et al., 2010).

La reducción de la humedad del néctar es una parte inseparable del proceso de maduración de la miel y deben hacerla exclusivamente las abejas. En el caso de *Apis mellifera*, el proceso de secado del néctar continúa normalmente hasta que el producto final tiene menos del 18 % de agua (Maurizio, 1975). Sin embargo, ciertas zonas muy húmedas y/o estaciones/condiciones climáticas pueden resultar excepciones, ya que las abejas pueden opercular las celdas de miel con un contenido de agua superior al 18% (Traynor, 2015).

Hidroximetilfurfural (HMF)

El contenido de HMF nos indica el grado de frescura de la miel, el HMF es un compuesto que se forma por descomposición de la fructosa ante la existencia de ácidos, su presencia en la miel puede aumentar por exposición de esta a altas temperaturas, por lo que se utiliza como indicador de calentamiento y envejecimiento de la miel (Bosch y Serra, 1986).

Según el Codex Alimentario (2001) se admite hasta un máximo de 40 mg/kg en general y un 80 mg/kg para climas tropicales

Acidez

La acidez indica el grado de frescura de la miel. Se relaciona también con la probable fermentación por desarrollo de microorganismo. El sobrecalentamiento es otro factor que se refleja en un alto valor de acidez. Este parámetro también es importante porque en el caso de haberse usado ácido láctico, oxálico o fórmico para combatir la Varroa la acidez de la miel aumenta (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA 2004)).

La acidez protege a la miel de los ataques microbianos y contribuye a otorgarle aroma (Piana et al., 1989) los ácidos de la miel se originan fundamentalmente a partir de las secreciones de las glándulas salivares de la abeja que producen los procesos enzimáticos y de las fermentaciones (Graca Miguel, 1987). La acidez se debe a la presencia de ácidos orgánicos en equilibrio con sus lactonas y algunos iones inorgánicos como fosfatos, cloratos, y sulfatos, cuyos ácidos son constituyentes de la miel

La acidez suele ser más elevada en mieles fermentadas, este parámetro no debe superar los 40 miliequivalentes por kilogramo, el ácido glucónico es el más abundante y procede principalmente de la descomposición de la glucosa, debido a la acción de enzima glucosa oxidasa presente de manera natural en la miel. (Perez-Arquillue' et al.,1995).

Enzimas

Son añadidas principalmente por las abejas, aunque algunas pocas proceden de las plantas. Las abejas añaden enzimas a fin de lograr el proceso de maduración del néctar a miel y éstas son en gran parte las responsables de la complejidad composicional de la miel.

Las mieles son ricas en enzimas y son de gran importancia como la diastasa (amilasa), invertasa y glucosa oxidasa. Una de las enzimas de mayor interés en la miel es la diastasa, que tiene la facultad de escindir el almidón en glucosa, es muy termolábil y las técnicas analíticas para determinarla son muy sencillas, su ausencia indica calentamiento y/o envejecimiento de la miel. (Huidobro et al.,1995).

Muchos países requieren valores mínimos para la actividad de diastasa, la cual se degrada fácilmente con el calor y con el envejecimiento desapareciendo la mitad de su contenido en un determinado tiempo (17 meses) a temperatura ambiente. Aunque también existen mieles con baja actividad enzimática como la miel de cítricos (Serra et al., 2000).

Anklam, (1998) refiere a la diastasa como un índice de calentamiento sufrido por la miel durante su proceso y/o condiciones de almacenamiento como valor menos exacto que el contenido de HMF, ya que la actividad enzimática varía mucho de una miel a otra debido a la cantidad de saliva con enzimas segregadas por las abejas durante su elaboración la cual varía bajo condiciones diferentes.

Azúcares

Los azúcares constituyen prácticamente el 80 % del peso seco de la miel y por ello determinan altamente muchas de sus características como la higroscopicidad, viscosidad y baja actividad de agua (A_w) (ICMSF, 2001).

Los azúcares más predominantes en la miel son fructosa y glucosa, estando la fructosa en mayor concentración (38 %) y la glucosa en un 31% (Loveaux,1985). Mientras que la concentración de sacarosa es muy variable y depende del tipo de miel y de su estado de maduración. Miel con alto contenido de sacarosa pueden ser debido a una maduración inadecuada o alimentación artificial de las abejas con jarabe de sacarosa durante mucho tiempo (Serra et al.,1987).

Según Loveaux (1985) la composición de los azúcares es importante para poder valorar el grado de pureza de la miel.

La adulteración de mieles de abeja

Se da normalmente por varias razones, entre las que se incluyen la adición de sustitutos artificiales de menor valor como el jarabe de maíz, el “azúcar invertido” obtenido por hidrólisis química, y la sacarosa (azúcar de mesa) en forma de jarabe; la alimentación de colmenas durante el flujo de miel y la alimentación en exceso de las colmenas durante la mielada (Ureña et al.,2007).

La miel de abeja es la sustancia dulce natural producida por abejas, y no deberá contener ningún ingrediente adicional que no sea miel (Decreto Ejecutivo No 35853 MEIC-MAG).

Tabla 1. Reglamento Técnico para la miel de abeja de Costa Rica (Sistema Costarricense de Información Jurídica 2009).

Características Físico y Químicas	Valor
Densidad relativa a 25°C/25°C	No menos de 1.40
Humedad en porcentaje en masa	No más de 21
Sacarosa en porcentaje en masa	No más de 5
Sacarosa en porcentaje en masa de mieles monoflorales Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>), Citrus spp, falsa Acacia (<i>Robinia pseudoacacia</i>), French Honeysuckle (<i>Madreselva</i>), (<i>Hedysarum</i>), Menzies Banksia (<i>Banksia menziesii</i>), Goma roja (<i>Eucalyptus camaldulensis</i>), Leatherwood (<i>Eucryphia lucida</i>), <i>Eucryphia miligani</i> .	No más de 10
Sacarosa en porcentaje en masa de mieles monoflorales Lavanda (<i>Lavandula</i> spp), Borraja (<i>Borago officinalis</i>)	No más de 15
Azúcares simples la suma de fructuosa y glucosa en porcentaje en masa ¹	No menos de 60
Acidez libre en meq, por cada kg	No más de 50
Cenizas en porcentaje en masa	No más de 0.6
Hidroximetilfurfural (HMF) en mg/kg (nota: El Codex alimentario permite 80 mg/kg para mieles de origen tropical tal es el caso de Costa Rica.)	No más de 40
Número de diastasa (Unidades de Schade)	No menos 8
Contenido de sólidos insolubles en agua en Porcentaje en masa ³	No más de 0.1

IV. MATERIALES Y METODOS

Sitio experimental

Los análisis respectivos de la investigación se realizaron en el Laboratorio de Química Apícola del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT) de la Universidad Nacional del Campus Benjamín Núñez de la Universidad Nacional, en Heredia (Costa Rica) entre los meses de marzo a julio del 2021.

Unidad experimental

Se realizó una investigación exhaustiva en los 3 mercados centrales seleccionados para determinar y enlistar todas las marcas de miel que se comercializan en ellos. Posteriormente se procedió a realizar la compra de las muestras y se almacenaron en un lugar fresco y seguro.

Se obtuvo como resultado 29 marcas en total sumando los tres mercados, a partir de este número de marcas se decidió hacer los análisis fisicoquímicos de 15 muestras correspondiente al 50% aproximadamente del total de las marcas para los análisis pertinentes de parámetros de calidad, siendo este un porcentaje muy representativo de la población (número total de marcas). La selección de las muestras a analizar se realizó al azar a través de un sorteo para San José y Alajuela por presentar mayor número de marcas, en el caso de Heredia se analizó el 100% de las marcas de miel (5 marcas) que se venden en el mercado. Se estableció comprar cinco muestras de cada mercado, para un total de 15 muestras a analizar.



Figura 1. Ubicación geográfica de los mercados de donde proceden las muestras de miel analizadas. (Imagen tomada de Google maps).

Metodología

La determinación fisicoquímica de las muestras de miel de abeja *Apis mellifera* se realizó según el protocolo descrito en los métodos armonizados de la comisión internacional de la miel (Bogdanov et al., 2002).

Los análisis desarrollados fueron los siguientes:

- Contenido de agua o porcentaje de humedad
- Contenido de Hidroximetilfurfural (HMF)
- Análisis de acidez libre
- Análisis de la actividad enzimática de Diastasa
- Determinación de azúcares por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

El análisis del contenido de humedad o agua

Se determinó por el índice de refracción de la miel, mediante el uso de un refractómetro Milton Roy Abbe 3L, el cual consistía en colocar la muestra de miel en estado líquido y repetir dos veces para hacer la lectura del índice de refracción (Bogdanov, 2009).

El contenido de Hidroximetilfurfural

Se determinó utilizando un espectrofotómetro de longitudes de onda, este contenido se basa en la lectura de absorbancia ultravioleta de HMF (Bogdanov 2009).

Análisis de acidez libre

Se utilizó un pH-metro, el proceso se basa en la neutralización del ácido con un hidróxido, hasta un valor de pH de 8.3 (Bogdanov, 2009).

Análisis de la actividad enzimática diastasa

Se determinó por medio de un espectrofotómetro utilizando una solución de almidón y yoduro. Es necesario usar una ecuación de regresión y así determinar el tiempo requerido para alcanzar la absorbancia (Bogdanov, 2009).

Determinación de azúcares por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

El contenido de azúcar se determinó mediante cromatografía líquida de alta presión con detección del índice de refracción (RI) los picos se identificaron en función de sus tiempos de retención, la cuantificación se realizó con el método estándar externo.

Para la determinación de jarabes altos en fructosa se utilizó el método HPLC de jarabe, para verificar las muestras positivas y negativas (Wang, 2014).

Este método se basa en la detección de oligosacáridos típicos del jarabe de maíz que no se hidrolizan completamente durante el proceso de conversión del almidón de maíz en sirope de maíz (proceso enzimático) ya que estos oligosacáridos no se encuentran en la miel, cuando se puedan detectar en la miel de abeja es sinónimo de que ha sido adulterada con jarabe alto en fructosa como por ejemplo jarabe de maíz. Esta detección se hace a través de la aparición de un pico a un tiempo específico de $5.50 \pm 0,02$ minutos en el cromatograma (Umaña-Rojas, 2021).

Análisis de Datos: se realizó haciendo uso del Software Minitab 2017 a través de estadística básica, análisis descriptivos e inferenciales.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primera instancia se procedió a identificar la mayor cantidad de marcas posibles que se comercializan en los mercados centrales de las 3 ciudades más grandes del Área Metropolitana de Costa Rica, en este estudio se identificaron 29 marcas las cuales se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 2. Marcas de miel comercializadas a nivel de los Mercados Centrales de la GAM Costa Rica año 2021.

Marcas de miel Oferentes en los Mercados Centrales del Sector Oeste de la GAM					
Mercado Central de Heredia		Mercado Central de Alajuela		Mercado Central de San José	
1	Puris Ecomiel	1	Miel de abeja Turrubares	1	Miel de abeja Turrubares
2	D" Tabarcia	2	Reserva Dorada	2	Doña Ana
3	Rooby	3	Rooby	3	Rooby
4	Ecomiel Multifloral	4	Ecomiel Multifloral	4	Ecomiel Multifloral
5	Miel de abeja Mariquita	5	La Pradera	5	El Enjambre
		6	La Abejita de HEI	6	La abejita
		7	Economiel	7	Economiel
		8	Miel de abeja api rica	8	La Exploradora
		9	miel de abeja multifloral	9	Miel M y A
				10	Apinectar
				11	Israel
				12	La Mariolita
				13	Dorada La Bajura
				14	La Casita de la Miel
				15	La Abeja Dorada

En la siguiente tabla se muestran las 15 marcas de miel que fueron analizadas.

Tabla 3. Código asignado y procedencia de las muestras analizadas.

Código de la muestra	mercado/ciudad
M1	San Jose
M2	San Jose
M3	San Jose
M4	San Jose
M5	San Jose
M6	Heredia
M7	Heredia
M8	Heredia
M9	Heredia
M10	Heredia
M11	Alajuela
M12	Alajuela
M13	Alajuela
M14	Alajuela
M15	Alajuela

Nota: La codificación asignada no corresponde al orden de las marcas que se presentan en la Tabla 2.

Los resultados obtenidos en relación al contenido de humedad y acidez libre para las 15 muestras analizadas se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Contenido de humedad y acidez libre obtenido en las muestras de miel analizadas

Muestra	Mercado/Ciudad	Contenido de humedad (%) \pm 0,2	Acidez libre (meq/kg) \pm 1
M1	San José	16,8	35
M2	San José	18,2	12
M3	San José	18,8	*56
M4	San José	16,6	6
M5	San José	17,6	31
M6	Heredia	17,8	29
M7	Heredia	16,2	36
M8	Heredia	17,4	29
M9	Heredia	18,2	36
M10	Heredia	19,2	34
M11	Alajuela	17,2	44
M12	Alajuela	17,6	9
M13	Alajuela	16,6	49
M14	Alajuela	16,0	25
M15	Alajuela	17,4	38

*valor superior

El 100% de las muestras analizadas, en relación al contenido de agua se encuentran dentro del rango establecido por la Norma Costarricense actual (21%). La importancia de analizar este parámetro en la miel es debido a que la humedad es un factor determinante de la calidad de esta, por lo que incide directamente en la viscosidad y el peso específico condicionando su sabor, y la tendencia a la fermentación.

Mientras que, para el parámetro de acidez, 14 muestras (93.33 %) se encuentran dentro del valor permitido por la Norma Costarricense para la miel, y solamente 1 muestra sobrepasó el límite permitido con un valor de 55 meq/kg. Lo cual podría deberse a las condiciones de almacenamiento, manejo en la cosecha o a la capacidad misma de la miel de absorber agua si esta no está herméticamente cerrada. Además, autores como Londoño y Quicazan (2007) mencionan que este parámetro puede verse afectado por el uso de ácido láctico o fórmico para combatir la Varroa, y el sobrecalentamiento es otro factor que puede reflejar un alto valor de acidez.

A continuación, se muestra gráficamente el comportamiento individual de las muestras, se puede observar la distribución de las muestras tanto en el eje de las X correspondiente a acidez libre, como en el eje Y correspondiente a humedad se puede ver que solamente una muestra incumple con ambos parámetros.

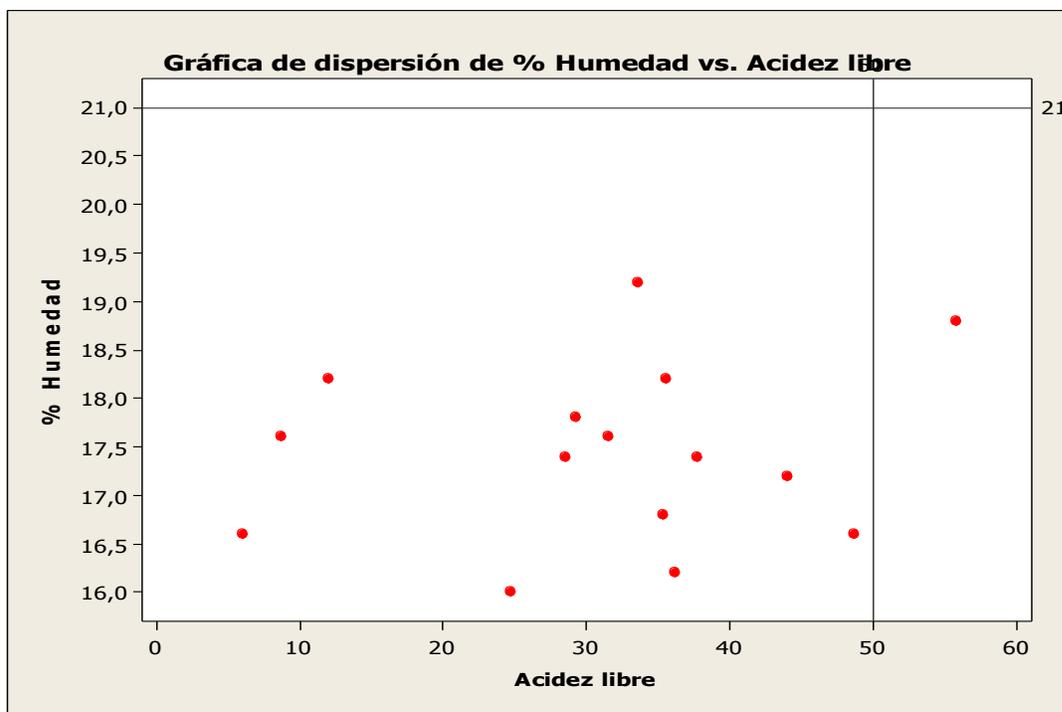


Figura 2. Distribución de las 15 muestras de miel de abeja según el contenido de humedad y acidez libre.

Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF) y actividad enzimática de diastasa.

El contenido de HMF es considerado el criterio más confiable para evaluar el envejecimiento y el sobrecalentamiento en mieles, pues este no debería ser detectado en miel fresca (Karabournioti y Zervalaki, 2001; White, 1980).

La actividad de diastasa también tiene valor como parámetro de calidad, y sus valores bajos reflejan, sobre todo un sobrecalentamiento en la etapa de procesamiento de la miel (Kamai, 2002).

En el presente trabajo, tal como se muestra en la Tabla 5 solamente 4 de las 15 muestras cumplieron con el máximo permitido de 80 mg/kg, establecido por el Códex Alimentario (2001)

Tabla 5. contenido de Hidroximetilfurfural y actividad de diastasa presente en las muestras de miel de la GAM.

Muestras	Mercado/Ciudad	HMF (mg/kg)	Valor de Diastasa (unidades Schade)
M1	San José	*434 ± 13	< 1
M2	San José	58 ± 2	1,6 ± 0,1
M3	San José	*1194 ± 36	< 1
M4	San José	*270 ± 8	< 1
M5	San José	•134 ± 4	15 ± 1
M6	Heredia	*215 ± 6	2,4 ± 0,1
M7	Heredia	*2620 ± 79	< 1
M8	Heredia	20 ± 1	13 ± 1
M9	Heredia	•113 ± 3	12 ± 1
M10	Heredia	•140 ± 4	11,3 ± 1
M11	Alajuela	*500 ± 15	11 ± 1
M12	Alajuela	*289 ± 9	< 1
M13	Alajuela	*4187 ± 126	< 1
M14	Alajuela	13 ± 1	24 ± 7
M15	Alajuela	55 ± 2	8 ± 0,4

*Representa valores de HMF más elevados de 200 mg/kg • Representa valores menores de 200 mg/kg, pero mayores de 80 mg/kg (niveles moderados de HMF)

De las 15 muestras analizadas solo 4 (26.66%) se encontraron dentro del valor permitido para el parámetro HMF por el Codex Alimentario (80mg/kg). Indicando que son mieles frescas, y que han sido almacenadas y manipuladas con buenas prácticas.

Tres muestras (20%) presentaron valores de HMF superiores a lo establecido, entre los 80-200 mg/kg lo que indicaría que estas mieles han pasado por un proceso de almacenamiento y procesamiento inadecuado; sugiriendo que estas muestras posiblemente fueron expuestas a altas temperaturas durante su procesamiento y/o almacenamiento (Huidobro et al., 1995). Autores como Bosh y Serra (1986), mencionan que el contenido de HMF aumenta espontáneamente con el transcurso del tiempo a temperatura ambiente observándose una notable diferencia del incremento según procedan de zonas frías o cálidas, siendo estas últimas, según estudios de mieles españolas, las que presentan valores superiores.

El mayor porcentaje 8 muestras (53.33%) sobrepasaron los 200mg/kg, lo que indicaría que fueron sometidas a altos niveles de sobrecalentamiento, afectando seriamente la calidad de estas mieles.

En la siguiente figura (gráfico 2.) se observa que el 73.33% de las muestras analizadas están fuera del valor permitido por la Normativa Costarricense y únicamente el 26.6% están cumpliendo con valores inferiores o iguales a 80 mg/kg. Analizar este parámetro permite evaluar el envejecimiento y sobrecalentamiento de la miel pues éste no debe detectarse en miel fresca.

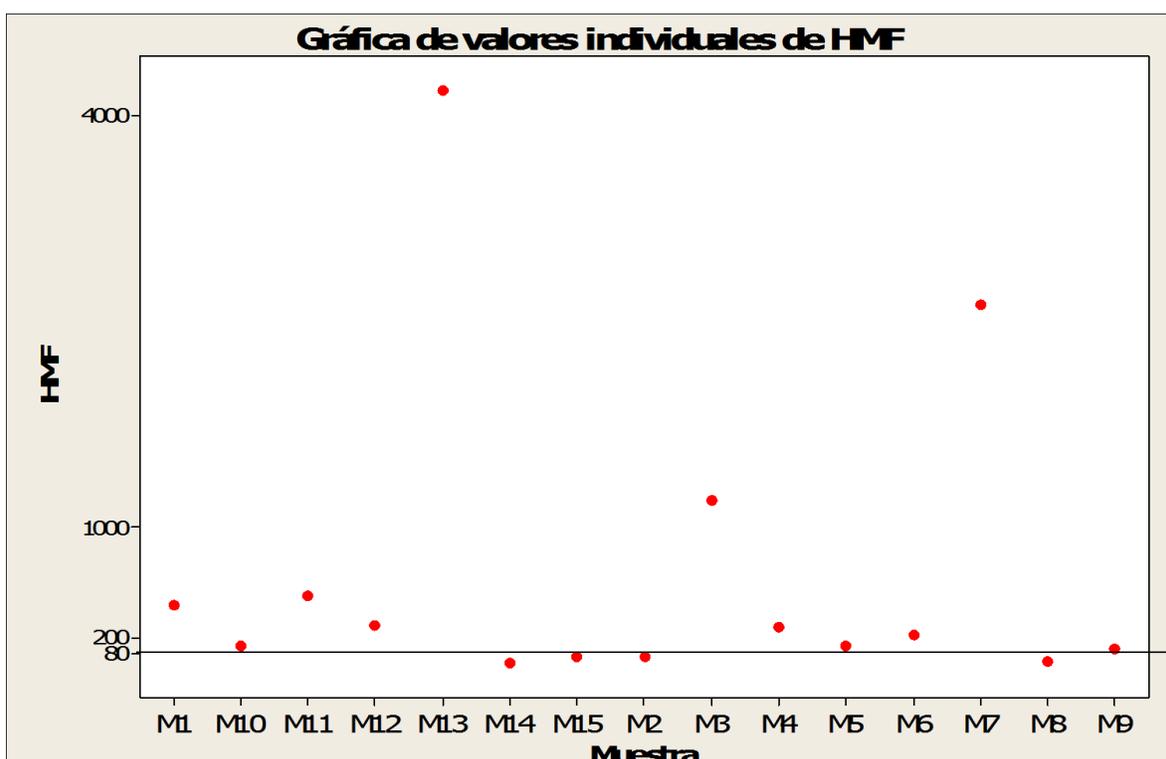


Figura 3. Comportamiento individual del hidroximetilfurfural en las 15 muestras analizadas

Únicamente el 20% de las muestras cumplieron con los valores permitidos de HMF y actividad de diastasa. Es decir, que son muestras que provendrían de mieles con buenas prácticas de producción y pureza. Mientras que el 80% de las muestras analizadas no están

cumpliendo con al menos uno de los parámetros, por ejemplo, el 46.66% de las muestras cumplen con el valor de diastasa permitido el cual debería ser igual o mayor a 8 unidades en la escala de Schade. Tal como se aprecia en el siguiente gráfico (gráfico 3). El cuadrante inferior derecho es el que corresponde a mieles de calidad para ambos parámetros.

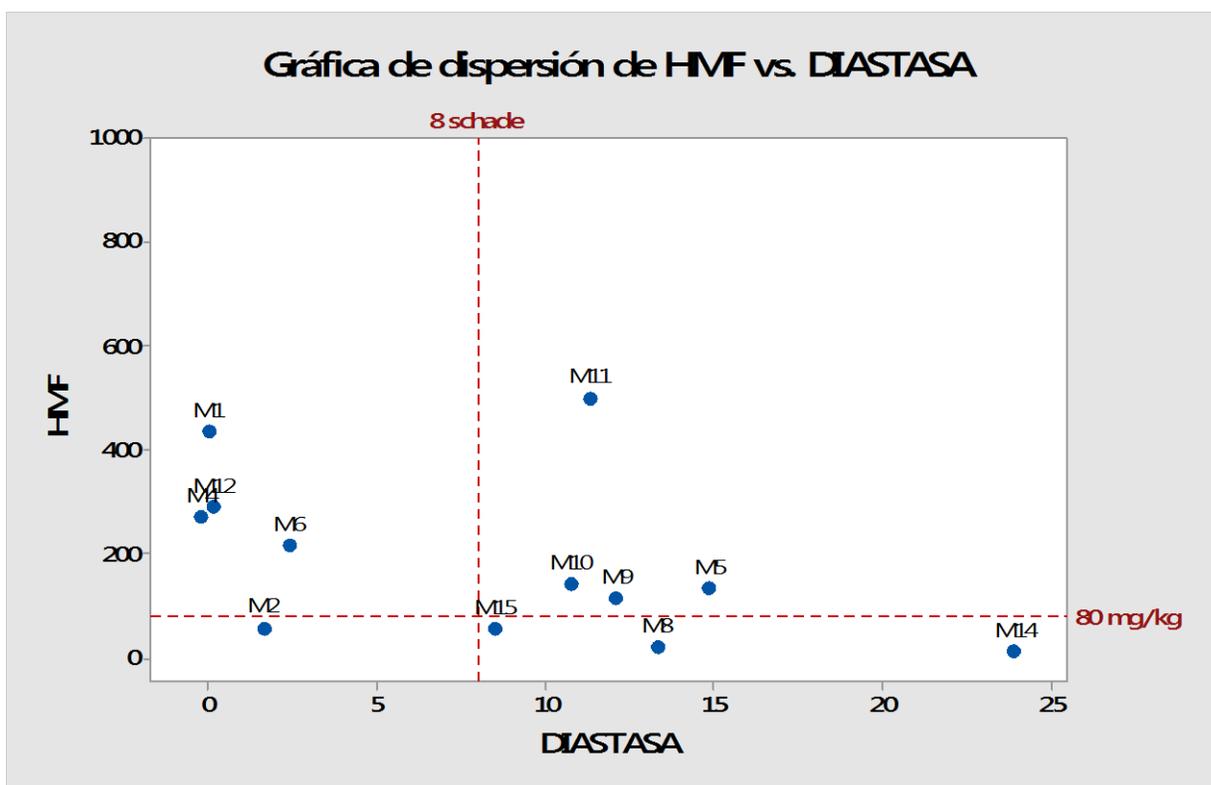


Figura 4. Comportamiento de HMF y actividad de diastasa en las muestras analizadas.

Tabla 6. Contenido de Azúcares simples, sacarosa y presencia de jarabes altos en fructosa de las muestras de miel comercializada en la GAM. (Límite de detección= 0.2 g/100 g de miel; Límite de cuantificación = 0.6 g/100 g de miel).

Muestras	Azúcares simples (fructosa+ glucosa) \pm 1 %	Valore de Sacarosa en g/100g	Presencia de jarabes altos en fructosa
M1	67	*8.9 \pm 0.2	
M2	41	< 0.6	Adulterada HFS
M3	64	< 0.2 (LD)	
M4	39	< 0.2	Adulterada HFS
M5	67	< 0.2	
M6	61	< 0.2	
M7	74	< 0.6 (LC)	
M8	65	< 0.2	
M9	64	< 0.2	
M10	68	< 0.2	
M11	63	< 0.2	
M12	31	< 0.2	Adulterada HFS
M13	47	< 0.2	
M14	63	< 0.6	
M15	61	< 0.6	

*Valor superior a lo establecido

Azúcares simples (fructosa + glucosa)

La determinación de azúcares por HPLC corresponde a la suma de los principales azúcares de la miel; fructosa y glucosa, nuestros resultados encontraron que 5 de las muestras no cumplen con el valor requerido por la Norma Nacional Costarricense (60g/100g). Diez muestras si presentaron valores normales.

Sacarosa

Para este azúcar únicamente una muestra presento un valor superior de lo reglamentado el cual no debe ser mayor de 5 para mieles poli flórales como en este caso.

Jarabes Altos en Fructosa

Los resultados obtenidos para este análisis el cual es un método de detección directa arrojaron positivo para tres de las quince muestras, tal como se aprecia en la tabla anterior.

En el siguiente grafico se observa la distribución y comportamiento de las muestras en contenido de sacarosa (eje X) y suma fructosa/glucosa (eje Y). el cuadrante superior izquierdo es donde se ubican las muestras con mejores resultados en ambos contenidos de azucares.

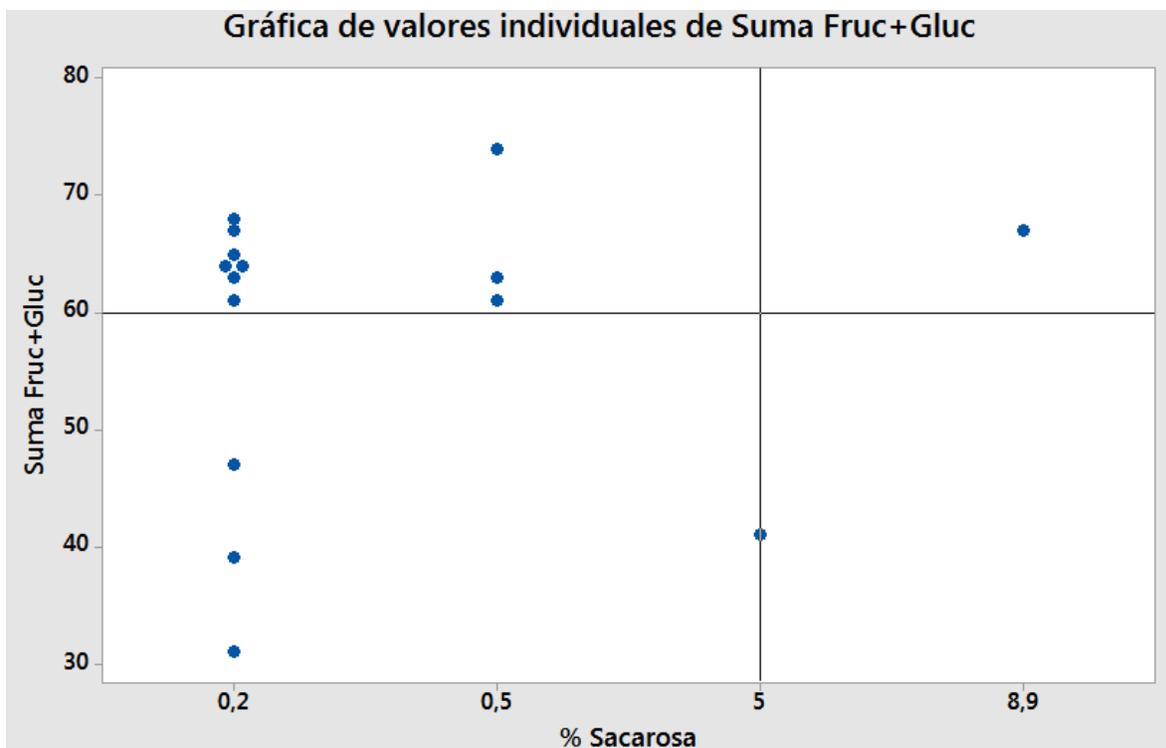


Figura 5. Distribución de azucares simples (fructosa + glucosa) y sacarosa de las muestras analizadas.

La tabla siguiente muestra el porcentaje de las muestras que cumplieron con cada parámetro.

Tabla 7. Porcentaje de las muestras de miel que cumplen con los parámetros de calidad según el reglamento para la miel de abeja de Costa Rica.

Variable/parámetro	Indicativo de:	% de muestras que cumplen
Agua/humedad	Madurez	100
Acidez libre	Madurez o deterioro por fermentación	93.3
HMF	Frescura/ adulteración/ Buenas prácticas apícolas	26.6
Diastasa	Frescura/ Buenas prácticas apícolas/sobrecalentamiento.	46.6
Suma Fructosa y glucosa	Adulteración/madurez	73.3
Sacarosa	Adulteración/madurez	93.3
Jarabes altos en fructosa	Adulteración	80

A continuación, se muestra un cuadro con los resultados de índice de fructosa/glucosa, y la condición o perfil que de acuerdo a una perspectiva conjunta de todos los parámetros determinamos para cada una de las muestras.

Tabla 8. Resultados de índice fructosa/glucosa y la condición de cada muestra de acuerdo a todo el conjunto de resultados obtenidos en su análisis respectivo.

Muestra	Índice Fructosa/Glucosa	Jarabes altos en fructosa (HFS)	Condición
M1	0.90		Adulteración jarabe invertido
M2	0.79	X	Adulteración con HFS
M3	0.83		Adulteración jarabe invertido
M4	0.80	X	Adulteración con HFS
M5	1.21		calentada/vieja
M6	1.14		sobrecalentada/vieja
M7	0.89		Adulteración jarabe invertido
M8	1.17		Excelente
M9	1.23		Calentada/Vieja
M10	1.07		Calentada/Vieja
M11	1.25		Mezcla entre mieles
M12	0.90	X	Adulteración con HFS
M13	0.88		Adulteración jarabe invertido
M14	1.2		Excelente
M15	1.25		Excelente

Tal como se aprecia en la tabla anterior y de acuerdo a los resultados obtenidos cuatro de las muestras sufrieron posiblemente adulteración con jarabes invertidos pues según sugiere White (1980) valores de 40 mg/kg hasta los 200 mg/kg son valores indicativos de sobrecalentamiento, valores superiores de 200 mg/kg es un nivel de acción para examinar la adulteración con azúcar invertida.

En consecuencia, un nivel alto de HMF puede funcionar como un indicador de adición de azúcar invertida y también de la adición de jarabe de maíz, obtenido por hidrólisis química (Crane, 1990).

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación se acepta la hipótesis nula planteada al inicio del documento, pues solamente el 20% cumplen con los criterios de calidad exigidos por la Norma Nacional de Costa Rica. contrariamente el 80% de las muestras de miel procedentes de mercados centrales de las ciudades de Alajuela, Heredia y San José, son alteradas por acción del hombre al sufrir sobrecalentamiento, almacenamiento inadecuado y adherencia de componentes ajenos a su naturaleza misma.

Nuestros resultados concuerdan con los encontrados por Ureña et al en 2006 en donde únicamente el 20% de mieles comerciales logró cumplir los estándares nacionales e internacionales.

VI. CONCLUSIONES

Se logró identificar 29 marcas de miel comercializadas en la zona del estudio, en la cual se encontró que en el mercado central de San José se venden más marcas (15), seguido por el mercado central de Alajuela (9) y por último el mercado central de Heredia (5) marcas, para un total de 29 marcas en esta zona de la GAM.

Las quince muestras cumplieron con el parámetro humedad, 14 muestras cumplieron con el parámetro acidez libre. Sin embargo, los resultados en los parámetros verdaderamente indicativos de autenticidad y calidad de las mieles son realmente alarmantes pues se encontró que apenas 4 muestras se encuentran dentro del valor permitido para HMF (80mg/kg), en cuanto a actividad enzimática diastasa 7 muestras cumplieron con este criterio, para el contenido de azúcares simples (fructosa + glucosa) 11 muestras presentaron valores normales, mientras que 14 muestras presentaron valores normales de sacarosa.

Para el caso de los jarabes altos en fructosa tres muestras dieron resultado positivo a este tipo de adulteración. (20%), cuatro muestras fueron posiblemente adulteradas con azúcar invertido (27%), tres muestras más (20%) provenían de mieles calentadas o viejas, una muestra procedía de mieles sobre calentadas, y una más indicó ser tomada a partir de mieles mezcladas al contener un elevado nivel de HMF, y una cantidad normal de actividad de diastasa.

Únicamente tres muestras cumplieron con todos los parámetros al contener valores de HMF bajos (menor o igual a 80 mg/kg), actividad de diastasa normal (mayor o igual a 8 unidades Gothe/g), contenidos de sacarosa normal (menor o igual a 5%), suma de azucares simples fructosa + glucosa (mayor o igual a 60) y un índice de fructosa/glucosa mayor o igual a 1.071.

VII. RECOMENDACIONES

- ✓ A las autoridades correspondientes velar por el cumplimiento de las Normativas Vigentes, y castigar ejemplarmente a los responsables ya que la miel que se está vendiendo en los mercados centrales de la GAM muestra incumplimientos serios en parámetros de calidad.
- ✓ Realizar campañas agresivas para que el consumidor final adquiera la miel directamente del apicultor o asociaciones apícolas, de esta manera se castigara en parte a quienes alteran la miel al no poder vender sus productos.
- ✓ Capacitar a apicultores independientes y asociados en temas de Buenas Prácticas Apícolas, para que mejoren la calidad de su producto.
- ✓ A los consumidores de la GAM se les recomienda ver el catálogo de mieles elaborado por el SENASA allí podrán encontrar mieles certificadas y comprar la de su preferencia.

VIII. BIBLIOGRAFIA

Abramson, C., S. Stone, R. Ortez, A. Luccardi, K. Vann, K. Hanig, y J. Rice. (2000). The Development of an Ethanol Model Using Social Insects I: Behavior Studies of the Honey Bee (*Apis mellifera* L.). *Clinical & Experimental Research* 24:1153-1166.

Agromeat.com. (2020). Una declaración mundial advierte que el fraude de la miel es generalizado y puede llegar a acabar con la apicultura. Disponible en: <https://www.agromeat.com/286316>. Consultado el 11 de mayo de 2021.

Anklam E. 1998. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry* 63(4): 549-562.

Bogdanov, S., Martin, C., Lulmann, C. (2002). Harmonized Methods of the European Honey Commission. International Honey Commission. *Apidology*. Special Issue.

Bogdanov, S. (2009). Harmonized methods of the International Honey Commission. Disponible en: <http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>

Bosh, J. y Serra, J (1986). Evolución del contenido en Hidroximetilfurfural en las mieles procesadas y situadas en el mercado español. *Alimentaria*, 179, 59. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5251568>

C.A.C. Codex Alimentarius Commission. Revised Codex Standard for Honey. *Codex Stan 12-1981, Rev.1 (1987), Rev. 2 (2001)*

Crane, E. (1990). *Bees and Beekeeping: Science, Practice and World Resources*. Ed. Heinemann Newres. Oxford, UK.

Comisión Del Codex Alimentarius (1981). “Revised Codex Standard for Honey”. *Codex Stan 12-1981;2pp*

Cuellar, A. Y Koop, F. (2020). Miel adulterada, pesticidas y cambio climático: los riesgos para la apicultura latinoamericana. *Distintaslatitudes.net*. <https://distintaslatitudes.net/author/distintaslatitudes>

Dimi, F. & Ilze, C. (2006). The criteria of honey quality and Its changes during storage and thermal treatment. *LLU Raksti*, 4, 73–78.

Frias, I. Y Hardison, A. (1992). Estudio de los Parámetros Analíticos de interés en la miel: Humedad, Acidez e índice de formol, Hidroximetilfurfural e índice de diastasa. *Alimentaria Mayo*. Pag.71-74.

García, N. (2003). Contaminación de la miel con Alimentos Artificiales. Dirección Nacional de Alimentos, MERCOSUR.

García, N., 2016. A Study of the Causes of Falling Honey Prices in the International Market. *American Bee Journal*, August 2016 p. 877-882.

García N., 2018. The Current Situation of the International Honey Market. *Bee World* 95:2376-7618.

Garry, S. (2017). Incorporación de mayor valor en la cadena de la miel y productos derivados de la colmena en el Pacífico Central, Costa Rica. www.cepal.org/. https://www.cepal.org/sites/default/files/publication/files/42232/S1700970_es.pdf. consultado el 16 de junio de 2021.

Graca, M. (1987). Contribucao para o estudo do mel, polen, geleia real e propolis. *Bol.Fac. Farmacia Coimbra*, 11(2), 17-47.

González Ulibarry, P. (2019). Etiquetado de la miel. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile. https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/27085/1/Etiquetado_de_la_miel.pdf, consultado el 25 de abril de 2021.

Huidobro, J.F., Santana,F.J., Sanchez,MP., Sancho,M.T., Muniategui, S. Y Simal,J. (1995). Diastase, invertase and B-glucosidase activities in fresh honey from north-west Spain. *Journal of Apicultural Research*, 34 (1). 34-44.

Kamai, A., Raza, S., Rashid, N., Hammeed, T., y Nasim, K. (2002). Comparative Study of Honey Collected from Different Flora of Pakistan. *Online Journal of Biological Sciences* 2 (9),626-627.

Karabournioti, S. y Zervalaki, P. (2001). Effect of Heating on Honey HMF and Invertase. *Apiacta*. 36(4). 177-181.

ICMSF (2001). Ecología microbiana de los productos alimentarios. Microorganismos de los alimentos. Ed. Acribia S.A., Zaragoza.

Londoño, C y Quicazan, M. (2007). “Valoración de Características Fisicoquímicas de Miel de Abejas Nativas Colombianas Respecto a Normatividad Vigente,” .1-3. Scienti.colciencias.gov.co

Loveaux, J. (1985). Le miel. *Cah.Nutricional Diet.*, XX, 1,57-70.

Maurizio, A., 1975. How bees make honey. En: E. Crane (Ed.), *Honey a Comprehensive Survey*. Chapter 2 (págs. 77-105). Heinemann: London.

Ministerio de Economía Industria y Comercio. (2018). DCAL-DVM-INF-026-2018 verificación de calidad, pureza y etiquetado en miel de abejas. <http://reventazon.meic.go.cr>.<http://reventazon.meic.go.cr/informacion/estudios/2018/etiquetado/INF-026-2018.pdf>, consultado el 24 de junio de 2021.

Morales Abarca, L. F. (2017). Producción y consumo de miel de abeja en Costa Rica. *Revista e-Agronegocios*, 3(2). <https://doi.org/10.18845/rea.v3i2.3692>. consultado el 6 de mayo de 2021.

Nicolson, S. and Human, A. (2008). Bees get a head start on honey production. *Biol. Lett.* 4:299-301.

Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). (2004, septiembre). Manual de buenas prácticas apícolas para la producción de miel. Senasa <https://www.senasa.go.cr>.<https://ManualdeBuenasPracticasenlaProduccionPrimariaenApicultura.pdf>

Pérez- Arquillue, C., Conchello, P., Ariño, A., Juan, T. Y Herrera, A. (1995). Physicochemical attributes and pollen spectrum of some unifloral Spanish honeys. *Food Chemistry*, 54 (2), 167-172.

Piana, G., Ricciardelli, G., Isola, A. 1989. La Miel. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. Pp:21-45.

Rico, C., y Cáceres, J. (2018). Adulteración de Miel: Estado Actual y nuevas técnicas de Análisis. apiscam.org. <https://apiscam.org/blog/wp-content/uploads/2017/10/Adulteraci%C3%B3n-de-la-Miel-Estado-Actual-y-Nuevas-T%C3%A9nicas-de-An%C3%A1lisis-16-05-17.pdf>

Ruiz-Argueso, T. y A. Rodríguez-Navarro. (1975). Microbiology of Ripening Honey. Appl. Microbiol. 30:893-896.

Serra-Bonvehi, J., Soliva, M. y Muntane, J. (2000). "Invertase activity in fresh and processed honeys". Journal of the Science of Food Agriculture, 80,507-512.

Traynor, K. (2015). Honey. En: J.M. Graham (Ed.), The Hive and The Honey Bee (págs. 673-703). Dadant & Sons. Hamilton, U.S.A.

Ulloa, J. A., Mondragón, P. M., Rodríguez, R., Reséndiz, J. A. y Rosas-Ulloa, P. (2010). La miel de abeja y su importancia. Revista Fuente, 2(4), 11-18. Recuperado el 8 de noviembre de 2017 de: <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/01-04/2.pdf>

Ureña M, Arrieta E, Umaña E, Zamora L y Arias M. (2007). Evaluación de la posible adulteración de mieles de abeja comerciales de origen costarricense al compararlas con mieles artesanales provenientes de apiarios específicos. ALAN v.57 n.1 Caracas mar. 2007. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222007000100009.

Sistema Costarricense de Información Jurídica. (2009). Norma Oficial para Miel de Abejas N° 13991-MEC. <http://www.pgrweb.go.cr/>. Disponible en: http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=21474&nValor3=82504&strTipM=TC

Umaña, E. comunicación personal 23 de junio de 2021

Vásquez, C. L. (2010). Caracterización de mieles de San Pedro de Atacama basada en análisis fisicoquímicos y melisopalinológicos. Tesis pregrado Licenciado en Biología. Universidad Austral de Chile

Velásquez, D. (2019, junio). Determinación de la calidad físico-química de la miel de abeja comercializada en Quito y comparación con la miel artificial. www.redalyc.org.
<https://www.redalyc.org/jatsRepo/5722/572262062005/html/index.html>

Wang, S., Guo, Q., Wang, L., Shi, H., Cao, H., Cao, B. (2014). Detection of honey adulteration with starch syrup by high performance liquid chromatography. Disponible en línea: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.044>

White, J.W. (1980). Detection of honey adulteration by carbohydrate analysis. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 63, 11-18

Záborská, B. and L. Vorlová, 2014. Adulteration of honey and available methods for detection – a review. *Acta Vet. Brno*. 83: S85–S102.

IX. ANEXOS

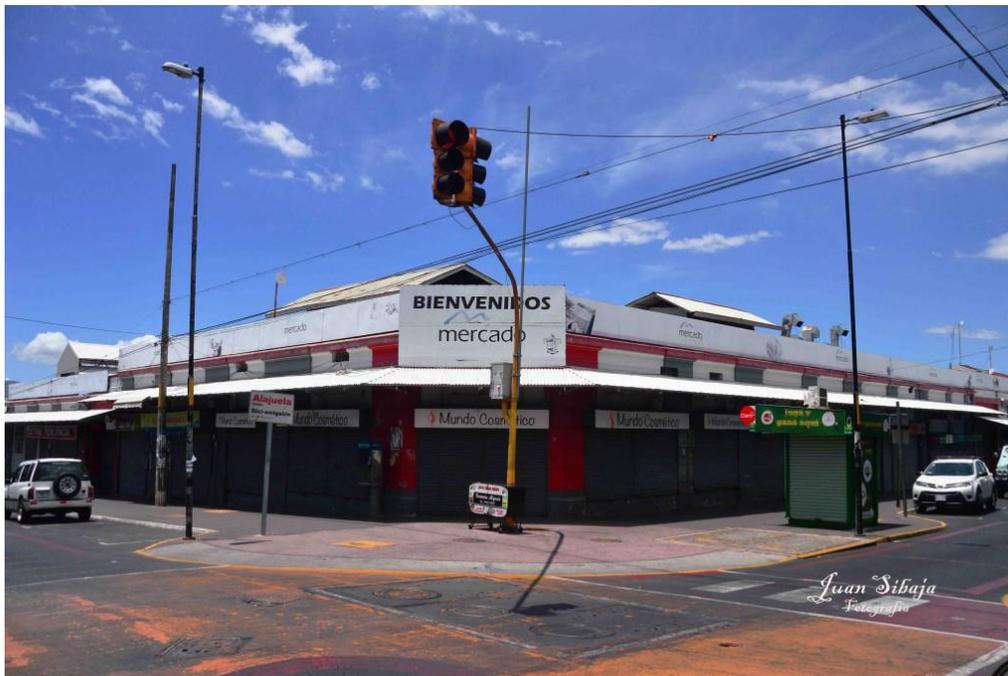


Figura 6. Mercado Central de la Ciudad de Alajuela (Imagen tomada de fotopaises.com)



Figura 7. Mercado Municipal de Heredia (imagen tomada de Heredia.go.CR)



Figura 8. Mercado Central de San José (Imagen tomada de; El mundo.CR)