



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE HUATUSCO

**“Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF)
en mieles de abeja (*Apis mellifera*) de varias zonas del Estado
de Yucatán y Montes de María, Colombia y su evaluación del
cambio con el tiempo de almacenamiento”.**

TESIS

Para obtener el título de:

INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

PRESENTA:

SALVADOR GARCÍA GONZÁLEZ

DIRECTORES DE TESIS:

DRA. INGRID MAYANIN RODRÍGUEZ BUENFIL

DR. ADÁN CABAL PRIETO

CODIRECTOR DE TESIS:

DR. MANUEL OCTAVIO RÁMIREZ SUCRE

HUATUSCO, VER.

SEPTIEMBRE, 2023





Agradecimientos

Agradezco a mi querida escuela el Instituto Tecnológico Superior de Huatusco (ITSH) del municipio de Huatusco, Veracruz, por el aprendizaje otorgado por parte de todos mis docentes, por el conocimiento y habilidades adquiridas durante el trayecto de mi carrera; por el apoyo académico y administrativo, y por darme la validez de realizar este trabajo experimental en un centro de investigación.

Al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. (CIATEJ) Subsele Sureste de la ciudad de Mérida, Yucatán, por abrir sus puertas a un estudiante de licenciatura, por haberme aceptado y darme la oportunidad de trabajar en sus instalaciones para poder crecer de manera profesional y personalmente.

A la Dra. Ingrid Mayanin Rodríguez Buenfil, por haberme aceptado como un integrante más en su equipo de trabajo y cumplirme el sueño de conocer un centro de investigación, por darme la oportunidad de participar en uno de sus múltiples proyectos; le agradezco también por su apoyo, sus consejos, su comprensión, por haberme forjado cualidades como la responsabilidad y la idea de que todo en esta vida se logra con trabajo duro.

Al Dr. Adán Cabal Prieto, por haberme aceptado como su discípulo desde el tercer semestre de mi carrera, por los conocimientos aprendidos durante mi experiencia de trabajo con él, porque gracias a sus consejos me animé a realizar este trabajo en un centro de investigación y así conocer otros lugares; le agradezco también por brindarme ese apoyo emocional, por sus consejos y principalmente por haber creído en mí.

Al Dr. Manuel Octavio Ramírez Sucre, por esa cálida bienvenida a CIATEJ Subsele Sureste, por su apoyo y sus consejos durante mi estancia en CIATEJ, por su amabilidad y por esa alegría que lo caracteriza siempre y que hace del lugar un ambiente agradable.

Al equipo de trabajo de la Dra. Ingrid, porque sin su apoyo y sus consejos no lo habría logrado, porque estuvieron al pendiente de mi desempeño, por su amabilidad, su buena atención, pero sobre todo por tenerme paciencia en todo momento a pesar de la más simple de mis dudas.

Dedicatorias

A Dios por ser mi mentor en los momentos más difíciles, por ser el guía y arquitecto de mi vida y por darme el conocimiento y las fuerzas necesarias para salir adelante y poder cumplir con este trabajo de investigación y así demostrar de que estoy hecho.

A mi padre y madre por ese apoyo incondicional, por sus consejos para mejorar en mis actividades diarias, por motivarme a seguir adelante y por regalarme uno de los tesoros más valiosos en la vida del ser humano “el estudio” y de esta manera ofrecerme la oportunidad de crear una mejor calidad de vida.

A mis abuelos por ser tan buenos y gentiles conmigo, por esos consejos que lo vuelven a uno más sabio, por el apoyo y el cariño que siempre me han ofrecido y por muchas otras cosas que los hacen merecedores de estar incluidos en este texto.

A mi familia en general por sus consejos, sus palabras motivacionales, por ese apoyo familiar siempre indispensable y sobre todo por depositar su confianza en mí.

A mis amigos y conocidos por brindarme su apoyo, por su solidaridad, su comprensión, sus consejos y por estar conmigo en los buenos y no tan buenos momentos.

A todos esos profesores y/o docentes que he tenido desde el jardín de niños hasta la educación superior, y que gracias a sus enseñanzas y consejos me han guiado hasta la meta, para cumplir el sueño de finalizar mi carrera de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

Índice del contenido

Agradecimientos.....	I
Dedicatorias	II
Índice del contenido	III
Índice de figuras.....	VII
Índice de tablas.....	IX
Lista de abreviaturas	XIII
Resumen.....	XIV
Abstract.....	XVI
I. INTRODUCCIÓN.	1
II. Antecedentes.....	4
2.1 Nacionales	4
2.2 Internacionales	6
III. Marco teórico.	11
3.1 Generalidades de la miel.	11
3.1.1 La abeja <i>Apis mellifera</i> (especie productora de miel).....	11
3.1.2 Definición de miel.....	11
3.1.3 Clasificación de la miel.....	12
3.1.4 Composición de la miel.	13
3.2 Generalidades de la apicultura.	14
3.2.1 Definición de la apicultura.....	14
3.2.2 La apicultura y la producción de miel en México y la región Sureste.....	14
3.2.3 La apicultura y la producción de miel en Colombia y Montes de María.....	16
3.3 El valor de la miel en el mundo.....	17
3.4 El valor agregado en los productos apícolas.	18
3.5 Parámetros de calidad de la miel.....	19
3.5.1 La frescura en la miel.....	20
3.5.2 El hidroximetilfurfural (HMF).....	20
3.5.3 Factores que interfieren en la producción de hidroximetilfurfural.	21
3.6 Azúcares reductores en la miel.....	22

3.7 Formación del hidroximetilfurfural (HMF) a partir de la deshidratación de los azúcares.....	22
3.7.1 Formación del HMF por deshidratación directa de hexosas.....	23
3.7.2 La reacción de Maillard y la formación del HMF.	24
3.7.3 Formación del HMF a partir de productos aldólicos.	25
3.8 Normatividad de la miel.....	26
3.8.1 Límites permisibles para la cuantificación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF).....	27
3.8.2 Límites permisibles para la cuantificación de azúcares reductores directos (ARD).	28
3.9 Método espectrofotométrico de White para determinar el contenido de hidroximetilfurfural	29
3.9.1 Espectrofotometría UV y el espectrofotómetro.	30
3.9.2 La importancia de las soluciones de Carrez.....	31
3.10 Método DNS o técnica de Miller.	32
3.11 Validación de un método.....	32
3.11.1 Validación de un método de acuerdo a su precisión.....	33
3.12 El clima tropical.	33
3.13 El clima en Yucatán.	34
3.14 El clima en Colombia.....	34
IV. Planteamiento del problema.	35
V. Justificación.....	36
VI. Objetivos.....	38
6.1 Objetivo general:	38
6.2 Objetivos específicos:	38
VII. Hipótesis.....	38
VIII. Materiales y métodos.	39
8.1 Descripción de las muestras.	39
8.2 Evaluación de la temperatura ambiente de almacenamiento.	41
8.3 Validación y estandarización del método espectrofotométrico (UV) de White mediante la prueba de precisión.....	42
8.4 Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF).	43
8.4.1 Materiales y equipos (determinación de HMF).	43
8.4.2 Preparación de las soluciones.	44
8.4.3 Preparación de la muestra.	44

8.4.4	Cuantificación del contenido de HMF en muestras de miel.	46
8.4.5	Análisis estadístico de las determinaciones HMF.	46
8.5	Determinación del contenido de azúcares reductores directos (ARD).	48
8.5.1	Materiales y equipos (determinación de ARD).	48
8.5.2	Reactivos y soluciones.	49
8.5.3	Curva patrón de glucosa.	49
8.5.4	Procedimiento para la determinación de azúcares reductores directos (ARD) en muestras de miel.	50
8.5.5	Cuantificación de los azúcares reductores directos (ARD) en muestras de miel.	51
8.6.6	Análisis estadístico de las determinaciones ARD.	51
IX.	Resultados y discusión.	53
9.1	Registro de la temperatura ambiente de almacenamiento de las muestras de miel.	53
9.2	Validación y estandarización del método espectrofotométrico (UV) de White mediante la prueba de precisión.	54
9.3	Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF).	57
9.3.1	Concentración inicial de HMF en las muestras de miel analizadas.	61
9.3.2	Concentración final de HMF de las muestras de miel analizadas.	62
9.3.3	Incremento (%) de HMF en las muestras de miel analizadas durante su almacenamiento a temperatura ambiente.	70
9.3.4	Comportamiento del contenido HMF en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>) almacenadas.	71
9.4	Determinación del contenido de azúcares reductores directos (ARD)	79
9.4.1	Concentración inicial de ARD en las muestras de miel analizadas.	84
9.4.2	Concentración final de ARD en las muestras de miel analizadas.	85
9.4.3	Porcentaje (%) de reducción del contenido de ARD en las muestras de miel analizadas durante su almacenamiento a temperatura ambiente.	89
9.4.4	Comportamiento del contenido de ARD en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>) analizadas.	91
9.5	Correlación entre el incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD de las muestras de miel analizadas.	98
X.	Conclusiones y recomendaciones.	103
XI.	Referencias bibliográficas.	106
	ANEXOS.	117
	ANEXO A. Preparación del reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico).	117

ANEXO B. Registro de la temperatura ambiente de almacenamiento.....	118
ANEXO C. Datos de la prueba de precisión (validación del método espectrofotométrico de White).	119
ANEXO D. Registro de Valores de absorbancias para “Muestra y “Referencia” de las distintas evaluaciones realizadas.	121
ANEXO E. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336) de las distintas evaluaciones realizadas.....	132
ANEXO F. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>Apis mellifera</i>) durante sus distintas evaluaciones.	143
ANEXO G. ANOVAS de la concentración inicial y final del contenido HMF (mg/100 g) en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>) analizadas.....	154
ANEXO H. ANOVAS de las concentraciones HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>) analizadas en sus distintas evaluaciones.....	155
ANEXO I. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (<i>Apis mellifera</i>) durante sus distintas evaluaciones.....	160
ANEXO J. ANOVAS de la concentración inicial y final del contenido ARD (g/L) en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>) analizadas.....	166
ANEXO K. Datos ordenados para la realización de las correlaciones entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>) analizadas durante un tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente.	167

Índice de figuras

Figura 1. Abeja especie <i>Apis mellifera</i> . (Fundación Museo Bolivariano, 2020).....	11
Figura 2. Estructura del 5-Hidroximetilfurfural (HMF) (Shapla et al., 2018).....	20
Figura 3. Estructura de la D-Fructosa (Martínez, 2014).....	22
Figura 4. Formación del HMF por medio de la vía acíclica. Mecanismo directo de deshidratación (Van Putten et al., 2013).	23
Figura 5. Formación del HMF por medio de la vía cíclica. Mecanismo directo de deshidratación (Van Putten et al., 2013).	24
Figura 6. Formación del HMF por reacomodación del compuesto de Amadori (reacción de Maillard). (Van Putten et al., 2013).	25
Figura 7. Condensación aldólica. Formación del HMF por medio de productos aldólicos (gliceraldehído y piruvaldehído), (Van Putten et al., 2013).....	26
Figura 8. Espectrofotómetro UV-Vis modelo Jenway.....	31
Figura 9. Zonas geográficas (apiarios) de recolección de las muestras de miel de Yucatán.....	41
Figura 10. Almacenamiento de las muestras de miel.	42
Figura 11. Muestra No. 6 TAH-BM	42
Figura 12. Análisis para evaluar el contenido HMF en las muestras de miel <i>A. mellifera</i>	45
Figura 13. Diagrama del proceso de determinación HMF en muestras de miel.....	47
Figura 14. Diagrama del proceso de elaboración de la curva patrón de glucosa.....	50
Figura 15. Análisis para evaluar la concentración de ARD en las muestras de miel <i>A. mellifera</i>	51
Figura 16. Diagrama del proceso de determinación ARD en muestras de miel.....	52
Figura 17. Comportamiento de la temperatura ambiente de almacenamiento determinado en un periodo de ochenta días.....	53
Figura 18. Concentración inicial y final del contenido HMF (mg/100 g) en las muestras de miel analizadas durante su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente.....	60
Figura 19. Incremento (%) de HMF en cada una de las muestras de miel analizadas.	70
Figura 20. Comportamiento del contenido de HMF en cada una de las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>) analizadas durante su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente.....	72
Figura 21. Curva patrón de glucosa realizada durante la realización de la prueba.....	80
Figura 22. Concentración inicial y final del contenido ARD (%(g/L)) en las muestras de miel analizadas durante su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente.	82
Figura 23. Porcentaje (%) reducido de ARD en cada una de las muestras de miel analizadas.	90

Figura 24. Comportamiento del contenido de ARD en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>) analizadas durante las semanas de almacenamiento a temperatura ambiente.....	92
Figura 25. Muestra No. 11 POTI-TX	97
Figura 26. Disolución de la muestra POTI-TX en estado reposo después de la adición de soluciones Carrez.....	98
Figura 27. Correlación del incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD de las muestras de miel analizadas durante esta prueba.....	99
Figura 28. Correlación del incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD que presentó la muestra PE-TAVESOL (de la localidad Peto y de floración Tahonal, Vejucó, Solen, AK.).....	100
Figura 29. Correlación del incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD que presentó la muestra PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin).....	100
Figura 30. Correlación del incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD de las muestras de miel con el contenido más alto de ARD después de ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente.....	102
Figura C-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos para la prueba de precisión del método.....	120
Figura C-2. Resultados de la prueba de repetibilidad para evaluar la precisión del método.....	120
Figura G-1. Análisis de varianza simple (ANOVAS) de la concentración inicial y final del contenido HMF (mg/100 g) de las muestras de miel analizadas.....	154
Figura H-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos de la concentración HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel analizadas en sus distintas evaluaciones. (hoja 1 de 5)	155
Figura H-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos de la concentración HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel analizadas en sus distintas evaluaciones. (hoja 2 de 5)	156
Figura H-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos de la concentración HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel analizadas en sus distintas evaluaciones. (hoja 3 de 5)	157
Figura H-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos de la concentración HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel analizadas en sus distintas evaluaciones. (hoja 4 de 5)	158
Figura H-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos de la concentración HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel analizadas en sus distintas evaluaciones. (hoja 5 de 5)	159
Figura J-1. Análisis de varianza simple (ANOVAS) de la concentración inicial y final del contenido ARD (g/L) de las muestras de miel analizadas.....	166

Índice de tablas

Tabla 1. Límite permisible del contenido de HMF en la miel para Colombia, México y el mundo. Fuente: Elaboración propia con datos de la NOM-004-SAG/GAN-2018. Producción de miel y especificaciones, NTC-1273. Miel de abejas y CXS 12-1981, Rev. 1987 y 2001 (DOF, 2020; ICONTEC, 2007 y FAO/OMS, 2023).	28
Tabla 2. Análisis de datos de comparación de distintos métodos realizados en un estudio para la AOAC (White, 1979).	30
Tabla 3. Datos generales de las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>) analizadas.....	40
Tabla 4. Materiales y equipos utilizados para las determinaciones HMF en muestras de miel.....	43
Tabla 5. Materiales y equipos utilizados para las determinaciones ARD en muestras de miel.....	48
Tabla 6. Registro de temperatura ambiente de la muestra No. 6 (TAH-BM). Prueba de precisión	54
Tabla 7. Contenido de HMF (mg/100 g) de la muestra No. 6 (TAH-BM) determinado en tres días consecutivos para la prueba de precisión del método.....	55
Tabla 8. Resultados de la repetibilidad para la prueba de precisión del método.	56
Tabla 9. Resultados de la concentración inicial y final del contenido de HMF (mg/100 g) determinado en muestras de miel (<i>A. mellifera</i>).	58
Tabla 10. Resultados de la concentración inicial y final del contenido de ARD (g/L) determinado en muestras de miel (<i>A. mellifera</i>).	81
Tabla C-1. Registro de valores de absorbancia “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm) para la prueba de precisión del método.	119
Tabla C-2. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). Prueba de precisión del método.	119
Tabla D-1. Registro de valores de absorbancia para “Muestra y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 1° evaluación. (hoja 1 de 2).....	121
Tabla D-1. Registro de valores de absorbancia para “Muestra y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 1° evaluación. (hoja 2 de 2).....	122
Tabla D-2. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 2° evaluación. (hoja 1 de 2).....	123
Tabla D-2. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 2° evaluación. (hoja 2 de 2).....	124
Tabla D-3. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 3° evaluación. (hoja 1 de 2).....	125
Tabla D-3. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 3° evaluación. (hoja 2 de 2).....	126
Tabla D-4. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 4° evaluación. (hoja 1 de 2).....	127

Tabla D-4. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 4° evaluación. (hoja 2 de 2).....	128
Tabla D-5. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 5° evaluación. (hoja 1 de 2).....	129
Tabla D-5. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 5° evaluación. (hoja 2 de 2).....	130
Tabla D-6. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 6° evaluación.	131
Tabla E-1. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 1° evaluación. (hoja 1 de 2).....	132
Tabla E-1. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 1° evaluación. (hoja 2 de 2).....	133
Tabla E-2. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 2° evaluación. (hoja 1 de 2).....	134
Tabla E-2. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 2° evaluación. (hoja 2 de 2).....	135
Tabla E-3. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 3° evaluación. (hoja 1 de 2).....	136
Tabla E-3. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 3° evaluación. (hoja 2 de 2).....	137
Tabla E-4. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 4° evaluación. (hoja 1 de 2).....	138
Tabla E-4. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 4° evaluación. (hoja 2 de 2).....	139
Tabla E-5. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 5° evaluación. (hoja 1 de 2).....	140
Tabla E-5. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 5° evaluación. (hoja 2 de 2).....	141
Tabla E-6. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 6° evaluación.	142
Tabla F-1. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 1° evaluación. (hoja 1 de 2)	143
Tabla F-1. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 1° evaluación. (hoja 2 de 2)	144

Tabla F-2. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 2° evaluación. (hoja 1 de 2)	145
Tabla F-2. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 2° evaluación. (hoja 2 de 2)	146
Tabla F-3. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 3° evaluación. (hoja 1 de 2)	147
Tabla F-3. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 3° evaluación. (hoja 2 de 2)	148
Tabla F-4. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 4° evaluación. (hoja 1 de 2)	149
Tabla F-4. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 4° evaluación. (hoja 2 de 2)	150
Tabla F-5. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 5° evaluación. (hoja 1 de 2)	151
Tabla F-5. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 5° evaluación. (hoja 2 de 2)	152
Tabla F-6. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 6° evaluación.	153
Tabla I-1. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 1° evaluación.	160
Tabla I-2. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 2° evaluación.	161
Tabla I-3. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 3° evaluación.	162
Tabla I-4. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 4° evaluación.	163
Tabla I-5. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 5° evaluación.	164
Tabla I-6. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>). 6° evaluación.	165
Tabla K-1. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de todas las muestras de miel (<i>A. mellifera</i>) analizadas.	167
Tabla K-2. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel (<i>A. mellifera</i>) más estable durante esta prueba.	168

Tabla K-3. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel (*A. mellifera*) menos estable durante esta prueba..... **168**

Tabla K-4. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel TAH-BM. **169**

Tabla K-5. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel TAH-DZ. **169**

Tabla K-6. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel TAH-JA. **170**

Tabla K-7. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel COL-DP. **170**

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Significado
A.	<i>Apis</i>
ANOVA	Análisis de varianza simple
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ARD	Azúcares reductores
CEDIA	Centro de Investigaciones Apícolas
CEM	Comisión Europea de la Miel
CV%	% de coeficiente de variación.
DNS	Ácido 3,5 dinitrosalicílico
DRS	Reducing sugars
g	Gramos
HMF	Hidroximetilfurfural
HPLC	Cromatografía de líquidos
IHC	International Honey Commission
kg	Kilogramo
L	Litro
<i>L.</i>	<i>Ligustica</i>
<i>m</i>	<i>Masa</i>
<i>M.</i>	<i>Melipona</i>
mg	Miligramos
ml	Mililitros
SADER	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
s	Desviación estándar
<i>T.</i>	<i>Tetragonisca</i>
UV	Ultravioleta
V	Volumen

Resumen

El hidroximetilfurfural (HMF) es un compuesto nocivo que aparece en las mieles debido a la deshidratación de los azúcares reductores (ARD), cuya presencia se puede acelerar por diversos factores, principalmente por el tiempo de almacenamiento y las altas temperaturas. Los azúcares reductores (fructosa y glucosa) constituyen la gran parte de los componentes en la miel. El objetivo general de este estudio fue evaluar y comparar la calidad de muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*) procedentes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia, en relación a su contenido de hidroximetilfurfural (HMF) y su cambio durante el almacenamiento. Entre los objetivos específicos, se estandarizó y validó el método espectrofotométrico de White para la determinación de HMF, se evaluó el contenido de ARD y se realizó una correlación entre el incremento HMF y el porcentaje reducido de ARD durante el almacenamiento. La experimentación consistió en evaluar HMF y ARD a las muestras de miel, en determinado tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente, la cual fue determinada dos veces por día. Los análisis de HMF y ARD se evaluaron de la siguiente manera: en algunas muestras procedentes de Yucatán (SIP-PT, ACEK-DZ, ACEK-JA, PIHOL-TD, PIHOL-DJ, TAH-BM, TAH-DZ y TAH-JA) se analizaron en las semanas 0, 2, 4, 6 y 8, cumpliendo un periodo de ocho semanas; el resto de muestras de Yucatán y las comerciales de Colombia (POTI-DZ, POTI-TX, PE-DZ, PE-DZJACHA, PE-CHAJA, PE-TAVESOL, COL-CR y COL-DP) se analizaron en las semanas 0, 1, 3, 5, 7 y 8, cumpliendo un periodo de ocho semanas; y finalmente las de Montes de María (COL-CZ, COL-SCE, COL-CAZIO y COL-CZMB) se analizaron en las semanas 0, 2, 4 y 6, cumpliendo un total de seis semanas. En cuanto al contenido de HMF, las muestras se posicionaron en un rango de 0.29 - 7.16 mg/100 g, en dónde la muestra COL-CZ reportó la menor concentración (0.29 ± 0.02 mg/100 g) y la muestra COL-DP presentó la mayor concentración (7.16 ± 0.03 mg/100 g). Las muestras que fueron almacenadas durante ocho semanas (muestras procedentes de Yucatán y las muestras comerciales de Colombia), obtuvieron un incremento de HMF del 6 al 207 %; mientras que las muestras almacenadas en un periodo de seis semanas (muestras procedentes de Montes de María, Colombia), se incrementaron en un rango del 44 al 142 %. Para el caso de ARD, los valores se posicionaron entre 52.10 - 78.90 %, en dónde la muestra POTI-TX reportó la menor concentración (52.10 % (521 ± 5.49 g/L)); y por su parte, la muestra TAH-BM mostró la mayor concentración (78.90 % (789 ± 3.98 g/L)). El porcentaje reducido de ARD en las muestras almacenadas a ocho semanas (muestras de

Yucatán y comerciales de Colombia) fue del 4 al 33 %; y por su parte, para las muestras almacenadas a seis semanas (muestras de Montes de María, Colombia) el rango fue del 11 al 18 %.

La muestra PE-TAVESOL se mostró como la muestra más estable en cuanto a contenido de HMF y ARD, mientras que PE-CHAJA se presentó como la muestra con menor estabilidad con respecto al contenido de HMF y ARD. Los resultados obtenidos se evaluaron de acuerdo con los estándares establecidos por la legislación internacional, mexicana y colombiana. Las muestras analizadas cumplieron con el estándar establecido para HMF; sin embargo, un 15 % del total de las muestras (POTI-TX y PE-CHAJA procedentes de Yucatán y COL-CR (muestra comercial) originaria de Colombia) no cumplieron con el estándar indicado para ARD.

Palabras clave: hidroximetilfurfural (HMF), azúcares reductores (ARD), miel (*Apis mellifera*), método espectrofotométrico (UV), calidad.

Abstract

The hydroxymethylfurfural (HMF) is a noxious compound in honeys that appears due to dehydration of reducing sugars (DRS), whose presence can be accelerated by various factors, mainly storage time and high temperatures. The reducing sugars (fructose and glucose) constitute the major components of bee honey. This study aimed to evaluate and compare the quality of bee honeys (*Apis mellifera*) from Yucatán, Mexico, and Montes María, Colombia due to the hydroxymethylfurfural (HMF) content, fresh and during storage. The specific objectives of the present study were: to standardize and validate the White's spectrophotometric method for the determination of HMF and to evaluate the content of DRS; also, a correlation of HMF increase and reduced percentage of DRS during storage, was made.

The study consisted of evaluating twice a day HMF and DRS of honey samples, in a determinate storage time at room temperature. The HMF and DRS analyses were evaluated as follows: samples from Yucatán (SIP-PT, ACEK-DZ, ACEK-JA, PIHOL-TD, PIHOL-DJ, TAH-BM, TAH-DZ y TAH-JA) were analyzed every 2 weeks (0, 2, 4, 6 and 8) within an eight-week period; the rest samples from Yucatán and commercial honey samples from Colombia (POTI-DZ, POTI-TX, PE-DZ, PE-DZJACHA, PE-CHAJA, PE-TAVESOL, COL-CR y COL-DP) were analyzed on the weeks 0, 1, 3, 5, 7 and 8 within an eight-week period. Finally, samples from Montes de María, Colombia (COL-CZ, COL-SCE, COL-CAZIO y COL-CZMB) were analyzed every 2 weeks (0, 2, 4 and 6) for a six-week period. Regarding the HMF content, the samples presented a range of 0.29 - 7.16 mg/100 g, where the COL-CZ sample reported the lower concentration (0.29 ± 0.02 mg/100 g) and the COL-DP sample presented the highest concentration (7.16 ± 0.03 mg/100 g). The samples stored for eight-weeks (Yucatán and Colombian commercial honey samples) presented a HMF increased from 6 to 207 %; while samples stored for six weeks (Montes de María, Colombia), increased from 44 to 142 %. Average DRS results were 52.10 - 78.90 %, where the POTI-TX sample reported the lower concentration (52.10 % (521 ± 5.49 g/L)); and the TAH-BM sample showed the highest concentration (78.90 % (789 ± 3.98 g/L)). The percentage of DRS in samples stored for eight-weeks (Yucatán and Colombian commercial samples) decreased from 4 to 33 %; while samples stored for six-weeks (Montes de María, Colombia) ranged from 11 to 18 %.

The PE-TAVESOL was the more stable sample, while the PE-CHAJA sample was the less stable in terms of HMF and DRS content. The results obtained were evaluated in accordance with the standards established by International, Mexican and Colombian legislation. The samples analyzed accomplished the



standard law for HMF; however, only 15 % of the samples analyzed did not accomplished the standard of DRS (POTI-TX and PE-CHAJA [Yucatán], and the COL-CR [Colombian commercial sample]).

Keywords: hydroxymethylfurfural (HMF), reducing sugars (DRS), honey (*Apis mellifera*), spectrophotometric method (UV), quality.

I. INTRODUCCIÓN.

El Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. (CIATEJ) es un centro público de investigación que pertenece a la Coordinación de Medio Ambiente, Salud y Alimentación del Sistema de Centros Públicos de Investigación (CPI) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). CIATEJ tiene la función de realizar diversos proyectos por medio de las distintas líneas de investigación para la mejora del desarrollo sostenible de la sociedad.

El proyecto de investigación que se describe a continuación fue realizado en las instalaciones de CIATEJ Subsele Sureste, en el “Laboratorio de Bioprocesos Biotecnológicos” bajo la dirección de la Dra. Ingrid Mayanin Rodríguez Buenfil y forma parte del proyecto bilateral de México y Colombia que lleva por título “Intercambio de conocimientos para la generación de valor agregado de productos apícolas de los Montes de María, Colombia, y Yucatán, México”

El presente trabajo denominado “Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF) en mieles de abeja (*Apis mellifera*) de varias zonas del Estado de Yucatán y de Montes de María, Colombia y su evaluación del cambio con el tiempo de almacenamiento” se enfoca en la caracterización de distintas muestras de miel provenientes de Yucatán, México y de Montes de María, Colombia a partir de la determinación de parámetros fisicoquímicos (hidroximetilfurfural y azúcares reductores directos) importantes en la evaluación de la calidad de una miel.

El hidroximetilfurfural (HMF) es un compuesto que aparece en las mieles debido a la degradación de azúcares, en especial de la fructosa y glucosa; y su aparición también se ve favorecida por algunos factores como la acidez (pH), el contenido de agua, las condiciones de almacenamiento, las temperaturas elevadas. Con la determinación del HMF se puede deducir la edad de una miel y su tratamiento recibido durante su procesamiento; por lo que se le atribuye como un parámetro para evaluar la calidad de una miel (Villar et al., 2015 y Zambrano y Ortega, 2015).

Por su parte, los azúcares reductores directos (ARD), también conocidos como azúcares simples o monosacáridos son aquellos que poseen un grupo carbonilo que se oxida con gran facilidad y por consecuencia le permite reaccionar con otras moléculas. En la miel, los principales azúcares con estas

características son la fructosa y la glucosa, que corresponden a los azúcares más abundantes presentes en la miel (Dini y García, 2022 y Solares, 2013).

La calidad en un alimento se ve determinada por una serie de distintos factores, los cuales necesitan ser evaluados para poder determinar confianza, aceptabilidad y seguridad en un producto. En el caso de la miel, existen ciertos parámetros fisicoquímicos que nos permiten evaluar su calidad, uno de los más conocidos es el hidroximetilfurfural (HMF) que cuenta con límites permisibles establecidos a nivel internacional por el Codex Alimentarius (CXS 12-1981, Rev. 1987 y 2001. Estándar para la miel) y a nivel nacional por algunas normas como la Norma Oficial Mexicana (NOM-004-SAG/GAN-2018, Producción de miel y especificaciones) para su comercialización en México y por la Norma Técnica Colombiana (NTC-1273) para su comercialización en Colombia. En ninguna de las normas se estipula un tiempo exacto o concreto para evaluar HMF en miel de abejas, por lo que se le atribuye realizar su evaluación en cualquier tiempo que se le considere necesario; algunos autores consideran conveniente evaluarlo a menos y más de seis meses (Ulloa et al., 2010).

Una de las grandes problemáticas y de las principales características que se buscan en el mercado de la miel, es el valor agregado que cada país le otorga a sus respectivas mieles con respecto a la calidad que estas presenten; por lo que existen diferencias entre mieles de distintas regiones, y a partir de esto es que algunos países pueden exportar grandes cantidades de miel a un alto valor económico, mientras que otras no (Ramírez et al., 2022).

México es un país que cuenta con una gran repercusión en el mercado de la miel a nivel mundial; puesto que tanto la producción y exportación del producto en cantidades considerables lo hacen posicionarse en los mejores lugares de las listas. De acuerdo con la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER, 2022) el país ocupa el noveno lugar como productor y el décimo tercero como exportador a nivel mundial.

Por otro lado, Colombia es un país que no cuenta con una gran influencia en el mercado de la miel a nivel mundial, debido a las problemáticas que enfrenta con respecto a los sistemas de apicultura en su país; es por ello que en la actualidad busca incrementar la innovación de proyectos apícolas con la finalidad de producir miel de buena calidad y mejorar sus sistemas de producción (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (Minagricultura-MA), 2018).

Con el presente trabajo, se pretende caracterizar un grupo de mieles provenientes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia por medio de dos análisis fisicoquímicos (Contenido de hidroximetilfurfural y contenido de azúcares reductores directos) con la finalidad de contribuir en un proyecto aún más complejo que lleva por nombre “Intercambio de conocimientos para la generación de valor agregado de productos apícolas de los Montes María, Colombia y Yucatán, México”, el cual tiene por objetivo generar cierto valor agregado en las mieles provenientes de las dos regiones.

La determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF) se realizó por medio de un método espectrofotométrico propuesto por primera vez por White (1979) y aprobado por organizaciones como la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2023), el Codex Alimentarius y la International Honey Commission (IHC, 2009) como uno de los métodos más efectivos para evaluar hidroximetilfurfural en muestras de miel.

Las determinaciones de HMF se realizaron cada dos semanas aproximadamente hasta completar un periodo de almacenamiento de dos meses. Los valores obtenidos se reportaron en mg de HMF sobre 100 g de miel (mg/100 g) y se evaluaron con base a la normatividad: Norma Oficial Mexicana (NOM-004-SAG/GAN-2018, Producción de miel y especificaciones), por la Norma Técnica Colombiana (NTC-1273) y por el Codex Alimentarius (CXS 12-1981, Rev. 1987 y 2001. Estándar para la miel). El resultado general obtenido durante el tiempo de almacenamiento se evaluó de acuerdo al incremento en porcentaje (%) del contenido de HMF en cada una de las muestras de miel analizadas.

Por su parte, la determinación de los azúcares reductores directos (ARD) presentes en la miel se llevó a cabo mediante el método DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), y los análisis fueron efectuadas en las semanas en las que se realizaron las determinaciones del contenido de HMF; por cada serie de determinaciones se realizó una curva de calibración. El contenido de ARD se expresó en gramos sobre litro de miel (g/L) y se evaluó de con base a la normatividad descrita anteriormente. El resultado general se determinó con base al porcentaje (%) reducido de ARD en cada una de las muestras de miel analizadas.

II. Antecedentes

2.1 Nacionales

Chávez (2010), determinó el contenido de HMF en mieles de abejas *Apis mellifera* de distinta fuente floral (mangle, campanita y cítricos) recolectadas en tres municipios del Estado de Veracruz y en distintos periodos de floración. El experimento se llevó a cabo en un laboratorio de la Universidad Veracruzana y la metodología consistió en determinar el contenido de HMF a las muestras de miel a temperatura ambiente y después de su almacenamiento en frascos de vidrio a 25, 30 y 40 $\pm$ 1 °C cada 12 días hasta cumplir un periodo de dos meses. Para la determinación del HMF se utilizó el método espectrofotométrico de Winkler propuesto por la NMX-F-036-1997. Para la miel de campanita, cítricos y mangle, los valores de concentración HMF en un inicio fueron de 6.227, 7.868 y 1.974 mg/kg, respectivamente; y al finalizar almacenadas a 25 °C los valores fueron de 11.474, 15.198 y 4.736 mg/kg, a 30 °C los valores fueron de 11.580, 17.017 y 8.940 mg/kg para campanita, cítricos y mangle, respectivamente, y finalmente almacenadas a 40 °C sus valores HMF fueron de 70.868, 66.087 y 43.104 mg/kg, para campanita, cítricos y mangle, respectivamente. Los datos reportados a 40 °C superaron el límite establecido por la Norma Mexicana (40 mg/kg). El autor recomienda no almacenar miel de abeja a 40 °C, puesto que las altas temperaturas es uno de los principales factores que incrementan el HMF.

Martínez (2020), evaluó el contenido de HMF y ARD en diez muestras de miel *Apis mellifera* (*Apidae*) de la región de Los Valles, Durango, México. Las muestras se recolectaron en las temporadas de primavera y otoño de 2018 y se almacenaron en frascos de vidrio a 4 °C hasta el momento de su análisis. La determinación de HMF se realizó por medio de un método isocrático en HPLC (UV), en donde se utilizaron las soluciones Carrez I y Carrez II, la absorbancia se midió en la longitud de onda de 285 nm, para la cuantificación se utilizó un software (con un 99 % de pureza) y con el cual se elaboró una curva de calibración de una R^2 de 0.9962. La determinación de los azúcares reductores (ARD) se llevó a cabo con base a la NMX-F-312-1978 “Método volumétrico de Lane-Eynon”. Los análisis de ambos se realizaron por triplicado. De acuerdo con los resultados obtenidos, para HMF solo fueron tres muestras que presentaron contenido HMF con valores de 40.5, 70.39 y 30.58 mg/kg todas producidas durante la época de primavera. En cuanto a los resultados para ARD las muestras de la temporada primavera y otoño reportaron concentraciones en un rango 41.50 - 76.73 %, en donde las muestras de la temporada otoño estuvieron por debajo del 60 % y las de primavera en un rango del 46 al 76 %. El autor concluyó que para

HMF los valores de concentración no superaron el límite establecido (80 mg/kg), y que los posibles resultados pueden deberse a un mal manejo de mieles, a las condiciones de almacenamiento y/o cosecha, e incluso al tipo de miel (monofloral y multifloral). Para ARD solo dos muestras cumplieron con el estándar (65 %), el contenido de humedad, el manejo en la cosecha y las condiciones de almacenamiento son factores que pueden alterar el contenido de los azúcares reductores.

Moguel et al. (2005), evaluaron la calidad de la miel de abeja *Apis mellifera* del Estado de Yucatán en sus distintas etapas de producción (de panal, acopio y exportación) por medio sus características fisicoquímicas (hidroximetilfurfural y azúcares reductores). Las muestras se recolectaron en 2001 de distintas fuentes de floración y en distintos periodos: miel de tahonal (diciembre-febrero), miel de dzidzilché (marzo-mayo) y miel de árboles-enredadera (noviembre-diciembre). La miel de panal se muestreo en distintos apiarios de manera directa evitando la luz directa y el calor, su extracción se llevó a cabo en un laboratorio utilizando un extractor centrífugo de acero inoxidable, se envaso y se almaceno a temperatura ambiente (26 °C temperatura media anual) hasta el momento de su análisis (no superior a dos semanas); la miel de acopio se recolectó en el momento del llenado de los tanques de recepción en los centros de acopio; y la miel de exportación se tomó de los tanques de almacenamiento de los centros de acopio antes de ser envasada para su exportación. Los análisis fisicoquímicos (HMF y ARD) se determinaron utilizando los métodos analíticos propuestos por la Comisión Europea de la Miel (CEM). La mayor concentración HMF se presentó en la miel con floración dzidzilché con un valor de 17.9 mg/kg y la menor concentración la obtuvo la miel con floración tahonal con un valor de 4.1 mg/kg. Por otro lado, el mayor contenido de HMF para las distintas etapas de proceso se presentó en la etapa de exportación para la miel dzidzilché y la menor para la miel de tahonal. Por su parte en cuanto a ARD la miel de tahonal reportó el mayor contenido con un resultado de 78.2 % y la menor la reportó dzidzilché con el 77 %. Los autores concluyeron que las mieles cumplieron con los estándares de calidad en cuanto al contenido de HMF, puesto que ninguna superó el límite establecido por las normas internacionales (40 mg/kg) y su contenido de azúcares reductores se mantuvo superior al límite mínimo (65 %).

Uch-Samos et al. (2019), realizaron determinaciones fisicoquímicas a una muestra de miel *Apis mellifera* multiflora cosechada en un apiario del Instituto Tecnológico de la Zona Maya, con el fin de utilizar la miel de abeja y su propóleo como complementos nutrimentales para la obtención de plántulas de chile habanero de buena calidad. Las pruebas fisicoquímicas se llevaron a cabo en el Laboratorio Central Regional de Mérida, Yucatán; entre esas pruebas se determinó el contenido de HMF y de ARD. Para HMF se utilizó la prueba LCRM-016-ART-06 referida por Uch-Samos et al. (2019); mientras que para ARD se utilizó el método de Lane y Eyton modificado con base a la NMX-F-036-NORMEX-2006. De acuerdo con los resultados, la muestra de miel evaluada reportó un valor HMF de 61 mg/kg y un valor ARD de 75.2 g/100 g (75.2 %); ambos parámetros cumplieron con el estándar establecido para HMF (límite máximo 80 mg/kg) y para ARD (límite mínimo 63.88/100 g).

2.2 Internacionales

Archilia et al. (2021), determinaron HMF en cincuenta muestras de miel *Apis mellifera* de distinta floración (naranja-cítrico, eucalipto, café-arábica, hiedra de uva, membrillo, acacia y melaza) recolectadas en distintos Estados de Brasil en el periodo de 2014-2016; con la finalidad de evaluar calidad, determinar origen floral y demostrar autenticidad en las mieles brasileñas. Para esta prueba, las muestras fueron almacenadas en tubos Falcón y se conservaron en refrigeración hasta el momento de su análisis. La determinación de HMF se realizó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC-DAD) utilizando una columna Lichrochart 100 RP. El procedimiento consistió en diluir 0.5 g de miel en 2.5 ml de agua ultrapura, los cuales se filtraron a través de un filtro de jeringa, y los filtrados se inyectaron en el HPLC-DAD. El volumen inyectado fue 20 µL y se determinó en una longitud de onda de 272 nm durante 10 minutos. La concentración HMF se calculó de acuerdo a una curva de calibración. Los valores de concentración HMF (mg/Kg) se encontraron en un rango de 0.00 a 88.91 mg/kg, en donde seis muestras superaron el límite establecido por la legislación brasileña y MERCOSUR (60 mg/kg) y solo una muestra superó el límite establecido por el consejo de la Unión Europea (80 mg/kg). De acuerdo con los autores, estos resultados fueron consecuencia de un posible calentamiento o manipulación de las mieles.

Da Silva et al. (2020), monitorearon los parámetros fisicoquímicos, compuestos fenólicos, capacidad reductora y DPPH de ocho muestras de miel *Apis mellifera L.* almacenadas a un determinado tiempo y temperatura. Las muestras fueron recolectadas en ocho ciudades distintas de Santa Catarina, Brasil, se almacenaron en botellas de polietileno a 20 ± 4 °C. El experimento consistió en realizar los análisis al momento de su llegada y después de su almacenamiento cada 90 días hasta cumplir un periodo de 450 días. Entre los análisis fisicoquímicos, se determinó HMF mediante un sistema de electroforesis capilar equipado con un detector de matriz de diodos, el procedimiento a seguir, se llevó a cabo, de acuerdo con la descripción del artículo (Da Silva et al., 2020). De acuerdo con los resultados obtenidos, las concentraciones de HMF se mantuvieron por debajo del límite establecido, otorgando un valor de 0.31 mg/kg para todas las muestras analizadas durante el periodo de almacenamiento. Los autores concluyeron que el tiempo de almacenamiento es un factor que influye en las propiedades fisicoquímicas de las muestras de miel *A. mellifera L.*

De Castro et al. (2017), evaluaron la calidad de dieciocho muestras de miel (quince de *Apis mellifera L.*, una de *Melipona scutellaris* y dos de *Tetragonisca angustula*) cosechadas en el periodo de 2014 a 2016 en el municipio de Vitória da Conquista del Estado de Bahía, Brasil, por medio de sus propiedades fisicoquímicas; entre los cuales se analizaron hidroximetilfurfural (HMF) y azúcares reductores (ARD). El experimento se llevó a cabo en un laboratorio de la Universidad Estadual del Suroeste de Bahía - Campus Vitória da Conquista. Para HMF los análisis se realizaron por triplicado utilizando el método cromatográfico (HPLC) de acuerdo con De castro et al., 2017; el contenido de ARD se evaluó de acuerdo con el método modificado de Lane y Eynon. Los resultados reportaron que el 66.67 % de las muestras superaron el límite permitido por la ley de Brasil (60 mg/kg) en donde para *A. mellifera L.* se encontraron valores HMF de 2.47 a 1238.2 mg/kg, para *T. angustula* valores HMF de 129.65 y 144.32 mg/kg, y para *M. scutellaris* un valor HMF de 103.13 mg/kg; según los autores los altos valores de HMF se deben principalmente al tiempo de almacenamiento de las muestras. Para ARD en *A. mellifera* se encontraron valores de 68.03 % a 75.19 %. Los autores concluyeron que las mieles cumplen con los estándares de calidad establecidos por la ley brasileña a excepción del HMF.

Lemos et al. (2017), determinaron las propiedades fisicoquímicas y los componentes inorgánicos de diecisiete muestras de miel producidas en la región amazónica por cuatro distintas especies de abeja (*Scaptotrigona sp.*, *Melipona fasciculata*, *Melipona flavolineata* y *Apis mellifera*). Las muestras fueron recolectadas por medio de succión, entre mayo de 2012 y noviembre de 2013 en nueve municipios de la región; se almacenaron en botes de plástico a 4 °C hasta el momento de su análisis. Entre los parámetros fisicoquímicos evaluados se encuentran el contenido de hidroximetilfurfural (HMF) y de azúcares reductores (ARD), los cuales se determinaron con base a la metodología propuesta por el Instituto Adolfo Lutz (2008). Las determinaciones se realizaron por triplicado. Con base a sus resultados, la concentración más alta de HMF se presentó en la especie *A. mellifera* con un valor promedio HMF de 60.04 mg/kg en donde la concentración mínima fue de 0.60 mg/kg y la máxima de 173.15 mg/kg; por su parte, las otras especies de abeja (*Scaptotrigona sp.*, *M. fasciculata* y *M. flavolineata*) reportaron concentraciones promedio HMF de 24.71, 17.81 y 34.62 mg/kg, respectivamente; ninguno de los valores sobrepasó el límite permisible por la legislación brasileña (60 y 80 mg/kg). Para ARD en *A. mellifera* reportó valores en un rango de 53.55 a 82.00 % con un resultado promedio de 66.75 %, el cual cumplió con el estándar establecido por la legislación brasileña (límite mínimo de 65 %).

Marques et al. (2020), experimentaron con doce muestras de miel *Apis mellifera* (seis recién cosechadas y seis muestras de miel añejas), las cuales se depositaron en pots de 300 ml y se almacenaron en un laboratorio de la Universidad Federal de Piauí en condiciones de la ciudad de Teresina, Brasil. El experimento consistió en realizar mezclas entre las mieles recién cosechadas y las mieles añejas en distintas proporciones según el proceso industrial (seis tratamientos, entre los cuales se incluyeron a la miel nueva y a la miel vieja en estado puro). El objetivo fue determinar el HMF según la metodología de la AOAC en el inicio de la prueba y después de 60 días de almacenamiento. Los resultados mostraron los siguientes valores: la miel recién cosechada inició con un valor HMF de 19 mg/kg y finalizó con un valor HMF de 32 mg/kg, la miel añeja inició con un valor de 141.13 mg/kg y finalizó con un valor de 183.02 mg/kg, la mezcla con mayor cantidad de miel añeja mostró con un valor HMF de 115.0 mg/kg y finalizó en 159.13 mg/kg, mientras que la mezcla con menor cantidad de miel añeja reportó un valor HMF 71.77 mg/kg y terminó en 97.73 mg/kg. Los autores reportaron que los tratamientos con mayor cantidad de miel añeja presentaron mayor concentración de HMF desde un principio en comparación con aquellos tratamientos con menor cantidad de miel añeja, y sus concentraciones aumentaron progresivamente con el paso del tiempo de almacenamiento. Los autores concluyen que el contenido de HMF se encuentra

relacionado con la edad de una miel (tiempo de cosecha); por lo que, una miel con mayor tiempo de almacenamiento siempre tendrá mayor cantidad de HMF que una miel con poco tiempo de almacenamiento.

Mohtar et al. (2011), evaluaron la calidad de diez muestras de miel de abeja comerciales procedentes de distintos mercados y supermercados del municipio de Miranda, Venezuela, por medio de sus propiedades fisicoquímicas y microbiológicas con el objetivo de observar posibles adulteraciones o mieles en envejecimiento. Entre los parámetros fisicoquímicos se evaluó el contenido de hidroximetilfurfural (HMF) por medio del método de Fiehe modificado con base en el Centro de Investigaciones Apícolas (CEDIA) de Argentina. De acuerdo con los resultados, para HMF el 60 % de las muestras presentaron valores superiores al límite establecido (40 mg/kg). Los autores concluyeron que para HMF las muestras analizadas fueron mieles baja calidad y/o envejecidas por posibles adulteraciones y/o excesivo uso de calentamiento.

Saraiva et al. (2013), determinaron y evaluaron el grado de deterioro de treinta muestras de miel *Apis mellifera* de seis diferentes marcas comerciales, recolectadas en junio y julio de 2008 de distintos supermercados y farmacias de São Luis- Maranhão, Brasil por medio de sus características fisicoquímicas (hidroximetilfurfural). Los análisis requeridos se llevaron a cabo en un laboratorio de la Universidad Federal de Maranhão. Para la determinación de HMF se utilizó el método espectrofotométrico de White propuesto por la AOAC (que determina HMF entre las longitudes de onda de 284 nm y 336 nm). Los resultados reportados presentaron la concentración mínima con un valor HMF de 46.4 mg/kg y una concentración máxima con un valor de 103.5 mg/Kg. La media de concentración HMF fue de 66.9 mg/kg superando el límite establecido por la legislación brasileña (60 mg/kg).

Los autores concluyeron que el 46.6 % de las muestras analizadas superaron el límite establecido por la ley brasileña.

Velásquez y Goetschel (2019), evaluaron la calidad de veintisiete muestras de miel comerciales *Apis mellifera* recolectadas del sur de Quito, Ecuador por medio de sus propiedades fisicoquímicas (hidroximetilfurfural y azúcares reductores). Los análisis fisicoquímicos de las muestras se realizaron por triplicado, utilizando los métodos propuestos por la AOAC. Para la determinación del hidroximetilfurfural se utilizó la metodología AOAC 980.23 (método espectrofotométrico de White); mientras que para la determinación de los azúcares reductores se usó el método de Luff-Schoorl. Los resultados obtenidos para

las muestras de miel comerciales mostraron un rango promedio de concentración HMF con valores de 3.01 a 18.64 mg/kg, las cuales reportaron diferencia significativa entre las concentraciones de las muestras con un nivel de confianza del 95 %; en la muestra de miel artificial no se identificó presencia de HMF. Para los azúcares reductores (ARD) los valores oscilaron entre 65-75 %, solo tres muestras no cumplieron con el porcentaje (%) establecido para azúcares reductores (ARD), los valores de ARD mostraron diferencia significativa entre sus concentraciones; para la miel artificial el resultado de ARD fue de 6.04 %. Los autores concluyeron que las muestras analizadas obtuvieron buenos resultados en cuanto al contenido de HMF al haber cumplido con el parámetro establecido por las normas. El HMF aparece en las mieles debido al sobrecalentamiento y a los tiempos prolongados de almacenamiento. Por su parte, la determinación de ARD es considerado como un parámetro crítico para evaluar la calidad de las mieles.

Villar et al. (2015), determinaron (HMF) en una muestra de miel de abeja comercial proveniente de España, utilizando espectrofotometría ultravioleta (método de White) con la finalidad de observar cambios progresivos del HMF al jugar con factores como el tiempo de almacenamiento y la temperatura. El experimento se dividió en dos fases: la primera fue determinar el HMF en una muestra de miel recién abierta (Miel A) y una muestra abierta hace un año (Miel B) almacenada a temperatura ambiente; y en la segunda se evaluó el contenido de HMF en la “Miel A” sometida a distintos tratamientos de temperatura y almacenamiento (temperatura ambiente en 0 horas, 40 °C en 4 horas, 60° C en 4 horas y 60° C en 24 horas). Las determinaciones de HMF se realizaron por triplicado. Los resultados para la primera fase presentaron un valor HMF de 2.06 mg/100 g para la “Miel A” y un valor HMF de 2.10 mg/100 g para la “Miel B”. En la segunda fase la concentración HMF de la “Miel A” superó el límite permisible (4 mg/100 g) con un valor HMF de 6.03 mg/100 g cuando la muestra fue sometida a 60 °C durante 24 horas. Los autores concluyeron que la formación de HMF en las mieles se debe a las temperaturas elevadas a las que se someten durante la aplicación de un tratamiento térmico y aumenta de manera progresiva debido a los tiempos prolongados de almacenamiento. Aunque, por otra parte, también indicaron que es muy posible que el HMF se encuentre más relacionado con el proceso de elaboración de la miel.

III. Marco teórico.

3.1 Generalidades de la miel.

3.1.1 La abeja *Apis mellifera* (especie productora de miel).

Apis mellifera también conocida como abeja europea es una especie de abeja originaria de Europa, Asia y África; actualmente se encuentra distribuida por el resto del mundo (Australia, América del Norte y América del Sur). Se puede encontrar fácilmente en regiones de clima tropical y templado principalmente en aquellas zonas donde existen suficientes plantas con las flores adecuadas para su función. Son insectos eusociales en dónde la hembra reproductora (abeja reina) y el macho (zángano) se dedican a la reproducción, mientras que la descendencia (abejas obreras) se encargan del bienestar de la colonia. Su alimentación se constituye a base del polen y néctar que recolectan de las flores, de mielada y de secreciones de otros miembros de la colonia. Con el polen y néctar que recolectan, *Apis mellifera* se encargan de producir distintos productos, entre ellos una sustancia dulce denominada miel, la cual la almacenan para conservarla como fuente de alimento. (Hammond y Blankenship, 2009 y Bradbear, 2005).



Figura 1. Abeja especie *Apis mellifera*. (Fundación Museo Bolivariano, 2020).

3.1.2 Definición de miel.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura en conjunto con la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS, 2023) por medio del Codex Alimentarius (1981) la define como una “sustancia dulce natural producida por las abejas melíferas a partir del néctar de las plantas, de las secreciones de partes vivas de las plantas o de excreciones de insectos succionadores de partes vivas de las plantas, que las abejas recolectan, transforman y combinan con sustancias propias específicas para depositar, deshidratar, almacenar y esperar hasta su maduración”.

Algunos autores la definen como “un alimento de alto valor nutritivo gracias a su variada composición en azúcares (principalmente), aminoácidos, enzimas, antioxidantes, vitaminas y minerales que el ser humano ha aprovechado desde tiempos remotos; y en la actualidad se ha convertido en un alimento legendario debido a las cualidades nutritivas y curativas que se le designan (Ulloa et al., 2010 y Llorente, 2015).

3.1.3 Clasificación de la miel.

La miel es un producto que se puede clasificar con base a distintas categorías (Diario Oficial de la Federación (DOF), 2020; Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC), 2007 y Chávez, 2010):

De acuerdo a su origen botánico:

- Miel de flores o néctar: Es la miel que se produce a partir del néctar de las flores y que a su vez se puede clasificar en:
 - ❖ Miel monofloral: Es la que se produce con el néctar de una sola especie de planta, conservando sus propiedades organolépticas y fisicoquímicas.
 - ❖ Miel multifloral y/o polifloral: Se produce con el néctar de varias especies de plantas, en dónde ninguno es predominante.
- Miel de mielada y/o mielato: Aquella que se produce a partir de las secreciones de partes vivas de las plantas o de excreciones de los insectos succionadores, que se alimentan de las partes vivas de las plantas.

De acuerdo a su tipo de extracción y/o cosecha:

- Miel escurrida y/o de gota: Se obtiene a partir del escurrimiento de panales desoperculados y sin presencia de crías (larvas en el interior).
- Miel centrifugada: Aquella que se obtiene con el uso de la centrifugación en panales desoperculados y sin crías.
- Miel prensada: Es la miel que se obtiene mediante el prensado de los panales sin cría.

De acuerdo a su presentación:

- Miel en panal: Se le considera a la miel que aún permanece en el panal operculado y libre de larvas.
- Miel en trozos de panal: Se presenta en uno o varios trozos de panal con miel y libres de larvas.
- Miel líquida: Se le considera a la miel en estado en líquido y que se encuentra libre de cristales visibles.
- Miel cristalizada: Se encuentra en estado sólido y/o semisólido debido al fenómeno de cristalización de los azúcares que le constituyen.

De acuerdo a su forma de producción:

- Miel convencional: Se elabora por medio de los métodos tradicionales de producción.
- Miel orgánica: Se elabora a partir del uso de sistemas de producción y procesamiento basado en leyes y regulaciones establecidas para productos orgánicos.

De acuerdo a su destino:

- Miel para consumo directo: Es la miel que con base a su presentación y características organolépticas se vuelve un producto adecuado y aceptable para el consumidor.
- Miel para uso industrial: Debido a que no cumple con las características adecuadas (olor, sabor, humedad, entre otros) es utilizada para la elaboración de otros productos.

3.1.4 Composición de la miel.

La miel de abeja está constituida por diversos compuestos entre los cuales predominan los carbohidratos representando el 60-85 % del volumen total (Almeida-Muradian et al., 2020); aunque algunos autores señalan que el contenido de azúcares puede llegar a representar hasta el 95-99 % (Almeida-Muradian et al., 2013). Los monosacáridos constituyen alrededor del 75 % siendo la fructosa el azúcar de mayor concentración con un 32-44 %, seguida por la glucosa con un 23-38 %; por su parte los disacáridos conforman del 10-15 % de los azúcares totales, de los cuales y los más importantes la maltosa se hace notar con el 7 % y la sacarosa con el 1 % (Machado De-Melo et al., 2017 y Almeida-Muradian et al., 2020).

El contenido de agua en la miel equivale del 10-20% (Uran et al., 2017). Su presencia en la miel depende las condiciones de extracción y almacenamiento; el grado de humedad puede aumentar debido a la capacidad higroscópica de las mieles (Suescún y Vit, 2008).

Existen otros componentes como enzimas, proteínas, aminoácidos, ácidos orgánicos, compuestos volátiles, vitaminas y minerales, entre otros que se encuentran en pequeñas cantidades. La composición de la miel depende de diversos factores como el origen botánico (condiciones de la planta, suelo y clima), el origen geográfico, las condiciones ambientales, y las condiciones de procesamiento y almacenamiento (Ulloa et al., 2010 y Machado De-Melo et al., 2017).

3.2 Generalidades de la apicultura.

3.2.1 Definición de la apicultura.

La apicultura es una actividad pecuaria que se dedica a la producción y al cuidado de las abejas para la obtención de productos como la miel, cera, propóleos, jalea real y polen. El lugar donde se desarrolla este sistema de producción se denomina apiario, el cual tiene la finalidad de gestionar la producción por medio de buenas prácticas apícolas para otorgar productos de calidad al consumidor (FAO, 2021 y SADER, 2015).

La historia de la apicultura se remonta desde épocas antiguas, aproximadamente 6000 – 7000 a. C. en las que el ser humano tuvo sus primeras colonizaciones en la Tierra. Con el paso del tiempo se ha ido desarrollando conforme a la evolución del hombre hasta llegar a todas partes del mundo convirtiéndose en una actividad de gran valor económico. (Instituto Nacional de la Economía Social (INAES), 2018; Ulloa et al., 2010 y Osorio, 2020).

3.2.2 La apicultura y la producción de miel en México y la región Sureste.

La apicultura en México tiene una gran relevancia socioeconómica y ecológica, puesto que se trata de una actividad agropecuaria con gran impacto en el desarrollo sostenible capaz de generar empleos, divisas y altos ingresos a quienes se dedican a realizar esta actividad (SADER, 2020 y Chan et al., 2018).

La apicultura en nuestro país se le atribuye desde la época precolombina (Magaña et al., 2017); fue en la época colonial en la que se introdujo la abeja europea (*Apis mellifera*), sin embargo, no fue hasta la segunda mitad del siglo XX que se empezó a sustituir por la abeja *Melipona* (abeja nativa de la península

de Yucatán). A partir de ese momento México comenzó a participar en el mercado mundial de la miel, desarrollando las primeras exportaciones significativas a partir de 1950 (Ulloa et al., 2010 y SADER, 2020).

En la actualidad México ocupa un lugar muy importante en el mercado de la miel a nivel mundial, posicionándose como el noveno lugar en producción de miel y como el décimo tercero en exportaciones. La mitad del volumen producido se consume en el mismo país, mientras que el resto de la producción es exportado a países como Estados Unidos, Alemania, Reino Unido, Bélgica y Arabia Saudita. Tan solo en el periodo 2016-2020 se exportaron alrededor de 29 mil toneladas generando un valor promedio anual de 90.9 millones de dólares (SADER, 2022).

El Sureste del país concentra la mayor parte de la actividad apícola, principalmente en Estados como Yucatán, Campeche, Quintana Roo y Chiapas (SADER, 2022). En 2019 el país produjo un estimado de 61.9 mil toneladas de miel, en donde el 71 % de esa producción se originó en ocho estados de la república, siendo Yucatán el máximo exponente con un total de 9.8 mil toneladas, seguido por Jalisco, Campeche y Chiapas con un total de 7.5 mil, 5.9 mil y 5.5 mil toneladas respectivamente. Los cuatro Estados restantes de la lista son Veracruz, Oaxaca, Quintana Roo y Puebla que juntos produjeron un total de 14.9 mil toneladas (SADER, 2020).

Según SADER (2020) la producción de miel llevada a cabo en 2019 representó un incremento del 6.1 % con respecto a los últimos diez años, en donde el promedio anual se mantuvo alrededor de las 58 mil toneladas. Para el año 2021 se reportó un total 63.3 mil toneladas de miel producidas, lo cual significó un incremento del 17 % con respecto a la producción de 2020 que se estima fue de 54.1 mil toneladas (SADER, 2022).

Para el año 2022 se pronosticó un estimado de 65.9 mil toneladas de miel producidas, representando un aumento del 5.8 % referente a la producción del año 2021. En cuanto a exportaciones, se consideró el seguir cumpliendo con los 33 clientes destinados, superando las 32 mil toneladas que se exportaron en el año 2021 (SADER 2022).

El sector apícola mexicano reportó que existen aproximadamente 2.1 millones de colmenas y alrededor de 43 mil apicultores distribuidos en todo el país (SADER, 2020). La apicultura en México tiene una gran repercusión en todo el mundo, y para seguir manteniéndose en un nivel aceptable se ha buscado generar

proyectos que beneficien al sector apícola. En 2020 se generó un proyecto piloto para algunas comunidades de Yucatán, Quintana Roo, Campeche y Tabasco; en el que se vieron beneficiados 960 apicultores y 19.2 mil colmenas. En 2021 se destinaron 189 millones de pesos para un aproximado de 30.5 mil productores en 29 Estados (SADER, 2020 y SADER, 2022).

3.2.3 La apicultura y la producción de miel en Colombia y Montes de María.

La apicultura en Colombia se dio a conocer en el mundo a partir de la década de 1970, en donde a principios de la década comenzaron a realizar sus primeras exportaciones que se mantenían alrededor de las 100 toneladas de miel; entre el periodo de 1973 – 1976 las exportaciones se establecieron entre 200 a 300 toneladas. Gracias a un estudio realizado en 1976 para el apoyo de la apicultura en el país, Colombia aumentó sus toneladas de miel para exportaciones, logrando finalizar la década de 1970 con alrededor de 900 toneladas de miel para realizar sus exportaciones (Minagricultura-MA, 2006).

La producción de miel en Colombia comenzó a tener importancia en el año 1976, pues con el estudio mencionado anteriormente, se descubrió la implementación de un nuevo sistema de apicultura (apicultura rústica y/o desarrollada en panales fijos) que influyó sobre el antiguo sistema (sistema de cuadros móviles). Este nuevo sistema de producción apícola logró de alguna manera mejorar los niveles de producción de miel en el país (Minagricultura-MA, 2006).

Sucre y Bolívar han sido algunos de los departamentos más importantes de la actividad apícola en Colombia desde sus inicios. Existe una subregión montañosa comprendida entre algunos territorios de Sucre y Bolívar (un total de 15 municipios) que se encuentra ubicada en la denominada Región Caribe de Colombia. Este lugar cuenta con una gran diversidad natural, y debido a esto y a sus condiciones geográficas, se hace de Montes de María un lugar atractivo para el desarrollo de actividades agrícolas. Sin embargo, al ser una zona con gran capacidad de explotación, han existido diversos conflictos entre distintos grupos sociales por la disputa de estas tierras (Hernández, 2013).

Colombia se ha tenido que enfrentar con una serie de problemas, que de alguna manera afectan su actividad apícola. Por ejemplo, según la Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura (CPAA) la implementación de nuevos proyectos ha mejorado el número de colmenas a través de los años. Sin embargo, en 2018 la producción de miel fue de 3,372 toneladas reportándose una disminución de aproximadamente 170 toneladas en comparación con el 2017 (3,542 toneladas de miel), esto gracias a la

pérdida de aproximadamente 2500 colmenas. Estas pérdidas se deben en gran medida a las condiciones climáticas (lluvias y sequías extremas), Minagricultura-MA (2018).

De acuerdo con la CPAA y Minagricultura-MA (2018) en el año 2016 Colombia se posicionaba en el puesto 59 de producción de miel a nivel mundial y en el octavo a nivel Latinoamérica con estimado de 3147 toneladas, en donde la gran parte de esa producción fue llevada a cabo en departamentos como Sucre, Bolívar, Córdoba, Antioquía, Valle del Cauca, Huila y Meta con producciones en un rango de 200-330 toneladas, las cuales se producen gracias a la explotación de la abeja *Apis mellifera*.

La CPAA ha reportado que existen alrededor de 110 mil colmenas y aproximadamente 3,000 apicultores que se dedican a esta actividad, en la que se ven beneficiados de manera directa (3,000 empleos fijos) y de manera temporal (6,000 empleos ocasionales), Minagricultura-MA (2018).

Actualmente Colombia continúa con la implementación de programas y proyectos para mejorar su nivel de aceptación a nivel mundial. Aunque eso será un completo reto, pues según FAO-FAOSTAT (2023) a pesar del aumento del 20.74 % que tuvo la producción en 2021 (4,650 toneladas) comparada con la de 2020 (3,851 toneladas), las exportaciones no contaron con el mismo éxito pues mientras que en 2021 la miel exportada fue de 6.99 mil toneladas aproximadamente con un valor estimado de 24 mil dólares, en el 2020 se reportaron alrededor de 13.11 mil toneladas con valor estimado de 43 mil dólares.

3.3 El valor de la miel en el mundo.

Los servicios y bienes apícolas han tenido una gran aceptación en todas partes del mundo, debido a la diversidad de productos que se obtienen al realizar esta actividad. Entre los bienes producidos, la miel es el producto más popular a nivel mundial desde tiempos ancestrales, en donde era utilizada y consumida por las diferentes culturas existentes; su popularidad se sigue manteniendo hasta el día de hoy, gracias a sus características organolépticas y otras cualidades (SADER, 2022 y Minagricultura-MA, 2018).

La miel ha tomado un valor muy importante en la sociedad que de acuerdo con algunos autores (Bradbear, 2005) su valor se puede clasificar de la siguiente manera:

Como un alimento: Al ser apreciada en el mundo como un alimento delicioso y rico en nutrientes, se ha tomado un lugar importante en platillos tradicionales de la sociedad.

Como medicamento: Su capacidad antimicrobiana le ha permitido utilizarse como antibiótico especialmente en el tratamiento de niños. Actualmente se están modernizando estos jarabes y tratamientos en países de Europa y Asia.

Como un producto de valor comercial: Su comercialización se efectúa bastante bien a nivel local, pues las mieles frescas son muy apreciadas por los consumidores al considerarlas de buena calidad. Además, es muy aceptada gracias a que se considera como un alimento no perecedero y se puede conservar en cualquier lugar.

Como un producto exportado: El mejoramiento de calidad de vida en algunos países industrializados, los ha obligado a satisfacer la demanda del consumo de miel; lo que permite una gran oportunidad para aquellos países exportadores de miel y para aquellos otros que están en vías de desarrollo y desean sumarse a las filas de exportación con cantidades considerables.

Como un alimento cultural: Se utiliza principalmente como una fuente de azúcares para la elaboración de algunos alimentos como el vino y la cerveza. En algunos lugares se ha vuelto muy popular en celebraciones tradicionales como nacimientos, bodas y en funerales.

3.4 El valor agregado en los productos apícolas.

La importancia de generar un determinado valor agregado en productos apícolas es una de las grandes ventajas que buscan los productores para poder comercializarlos de mejor manera, en lugar de venderlos en materia bruta. Algunos productos apícolas con valor agregado pueden ser la miel de abeja, la cera, el polen y los propóleos por su adaptabilidad al ser utilizados como productos con diferentes funciones, como alimentos, cosméticos, jarabes, ungüentos y otros (Bradbear, 2005).

Según Minagricultura-MA (2018), los productos provenientes de la colmena pueden obtener su valor agregado mediante cualquiera de las siguientes denominaciones:

Por su origen: Este tipo de valor agregado se puede generar considerando dos vías; la primera es por localización, es decir, por el lugar en donde se elaboró el producto y la forma en la que se elaboró; y la segunda está enfocada con el origen floral.

Por su calidad: Este tipo de valor agregado se obtiene gracias a certificaciones obtenidas por organismos de gobierno durante el proceso de producción, procesamiento, empaque, almacenamiento, comercialización, etc.

Por comercio justo: Se puede obtener mediante una certificación otorgada a productos extraídos de la colmena, la cual tiene como finalidad aplicar una justa distribución de las utilidades mediante la cadena productiva.

Productos para apiterapia: En este caso la generación de un valor agregado conlleva una serie de procesos especiales que garanticen seguridad en los productos mediante condiciones de calidad e inocuidad.

Transformación: Para estos casos el valor agregado es generado a partir de la obtención y/o elaboración de un producto complejo, utilizando como materia prima aquellos productos extraídos de la colmena. Por ejemplo, la conservación del polen para alimentos funcionales, bebidas fermentadas de miel, barras energéticas, entre otros.

3.5 Parámetros de calidad de la miel.

La miel se considera como un alimento de excelente calidad gracias a sus propiedades antimicrobianas que lo convierten en un alimento no perecedero. Sin embargo, la composición de esta sustancia es muy compleja y es por ello que su calidad se ve determinada de acuerdo a la evaluación de los distintos parámetros fisicoquímicos (contenido de agua, azúcares, cenizas, acidez libre, conductividad eléctrica, índice de diastasa, hidroximetilfurfural, pH, color, proteínas, minerales, aminoácidos, enzimas, entre otros); los cuales deben cumplir con los estándares adecuados que establecen las normas (Urrego, 2017; Ulloa et al., 2010 y Almeida-Muradian et al., 2020).

El negocio de la miel se extiende cada vez más por todos los rincones del mundo, lo que hace que este delicioso y viscoso producto presente mayor tendencia y exista una gran competitividad por la producción y comercialización de este bien. Es por ello que, ante la necesidad de posicionarse como alguien de gran importancia en el mercado de la miel, la herramienta eficaz para hacerlo se llama calidad. En el campo de los alimentos la calidad se ve determinada por el conjunto de diferentes factores que tienen por objeto satisfacer las expectativas de los consumidores. Algunos de estos factores a tomar en cuenta son los nutricionales, comerciales, sensoriales, ambientales, microbiológicos, entre otros (Díaz, 2009).

Los criterios más importantes a considerar para cumplir con los objetivos de calidad de una miel, son los siguientes (Visquert Fas, 2015):

- **Higiene:** La miel no debe presentar contaminaciones (sustancias y/o microorganismos nocivos).
- **Frescura:** La miel debe conservar sus propiedades organolépticas sin haber sufrido modificaciones severas. Los procesos de industrialización, los tratamientos térmicos y los tiempos prolongados de almacenamiento afectan este factor.
- **Genuinidad:** La miel no debe comercializarse en estado de adulteración.

3.5.1 La frescura en la miel.

Uno de los criterios más importantes a considerar para comercializar una miel es determinar su grado de frescura. Evaluar la frescura en la miel evita que se lleguen a comercializar mieles que se encuentren totalmente alteradas durante su proceso, aquellas que no cumplan con los estándares de calidad establecidos por la ley e incluso mieles que no sean recientes y que tengan periodos extensos de almacenamiento. La actividad diastásica y el contenido de hidroximetilfurfural son los dos parámetros fisicoquímicos considerados para evaluar la frescura en una miel (Visquert Fas, 2015).

3.5.2 El hidroximetilfurfural (HMF).

El hidroximetilfurfural, 5-Hidroximetilfurfural o simplemente HMF es un compuesto cíclico (aldehído y furano) que aparece en una gran variedad de alimentos, entre los cuales se incluye a la miel. El HMF es generado a partir de la deshidratación y/o la descomposición de los azúcares, especialmente los monosacáridos (fructosa y glucosa); que regularmente se debe a la reacción de Maillard (Da Silva et al., 2015; Fuentes et al., 2018 y Villar et al., 2015). El hidroximetilfurfural está formado por un anillo furánico en conjunto con dos grupos funcionales, un aldehído y un hidroxilo (Mejía y Serrano, 2011).

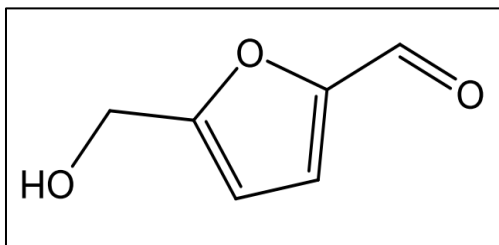


Figura 2. Estructura del 5-Hidroximetilfurfural (HMF) (Shapla et al., 2018).

El HMF puede ser causante de efectos contraproducentes para la salud; por ejemplo, de problemas mutagénicos, cancerígenos, genotóxicos, y otros problemas que dañan el ADN, además de producir efectos citotóxicos que provocan irritación en la piel, ojos y mucosa. El HMF se ha convertido en un verdadero problema para cualquier tipo de alimento procesado, y es por tal causa que ha sido considerado como un parámetro de la calidad que debe ser evaluado (Shapla et al., 2018 y Fuentes et al., 2018).

El HMF no se encuentra presente ni el néctar ni en las mieles frescas, por lo que no se le considera como una propiedad intrínseca de la miel. Algunas mieles frescas contienen concentraciones mínimas de HMF que van de 1 a 2 mg/kg, pero pueden incrementar con la temperatura y el tiempo de almacenamiento (Chávez, 2010).

3.5.3 Factores que interfieren en la producción de hidroximetilfurfural.

Existen diversos factores que aceleran el proceso del HMF en las mieles, algunos de ellos considerados como de los principales, son el tiempo de almacenamiento y la temperatura que estas reciben (Shapla et al., 2018). Una temperatura adecuada y un correcto almacenamiento son útiles para conservar una miel en buenas condiciones; para que una miel conserve sus propiedades originales se recomienda almacenarla en envases de vidrio a una temperatura máxima de 20 °C y una humedad relativa menor de 60 % (Martínez, 2013). Las mieles almacenadas a 50 °C pueden incrementar su contenido de HMF en un par de días, lo mismo sucede con aquellas mieles almacenadas a 20 °C en algunos meses, por lo que algunos autores recomiendan almacenar las mieles en un rango de 12 a 15° C para que el incremento sea mínimo (Chávez, 2010).

Por otra parte, la formación del HMF también depende de su composición química, por ejemplo, el pH, la acidez libre, la acidez total, el contenido de agua (humedad), la presencia de ácidos orgánicos, el perfil de azúcar, contenido de minerales y hasta su origen floral (Da Silva et al., 2015 y Shapla et al., 2018).

De acuerdo con otros autores la formación de HMF en la miel se relaciona un poco más con el tratamiento recibido durante su proceso de elaboración y con la aplicación de tratamientos térmicos por encima de los 60 °C a tiempos cortos de almacenamiento (Villar et al., 2015). Un tratamiento térmico inadecuado durante su procesamiento altera sus características originales, disminuyendo la actividad enzimática y acelerando el aumento de HMF (Martínez, 2013).

3.6 Azúcares reductores en la miel.

Los principales componentes que constituyen la sustancia denominada miel son los carbohidratos, conformando un 95 % (p/p) del total de azúcares; de los cuales el 75 % pertenece a los monosacáridos (fructosa y glucosa), mientras que el 10-15 % lo conforman los disacáridos (Sacarosa). Es importante mencionar, que la miel contiene otro tipo de azúcares (oligosacáridos, trisacáridos y tetrasacáridos) presentes en menores cantidades (Dini y García, 2022).

Los azúcares reductores, también conocidos como monosacáridos o azúcares simples son aquellos que en su estructura poseen un grupo carbonilo (grupo funcional) reductor que se oxida con gran facilidad, y a su vez tienen la capacidad de reaccionar con otras moléculas. Los azúcares reductores son los encargados de alterar las proteínas mediante la glicación o glucosilación no enzimática mejor conocida como “reacción de Maillard”. Algunos ejemplos de azúcares reductores son la glucosa, fructosa, maltosa y lactosa (Tun, 2014 y Solares, 2013).

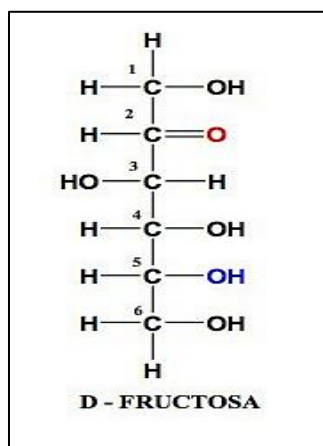


Figura 3. Estructura de la D-Fructosa (Martínez, 2014).

3.7 Formación del hidroximetilfurfural (HMF) a partir de la deshidratación de los azúcares.

El hidroximetilfurfural se forma a partir de la deshidratación de aldosas (glucosa) y cetosas (fructosa). Existen distintas cinéticas que conllevan a la formación de este compuesto, sin embargo, son tres las principales vías de formación:

3.7.1 Formación del HMF por deshidratación directa de hexosas.

Esta función se da por medio de dos mecanismos o vías, la vía acíclica y la vía cíclica. En la vía acíclica ocurre una isomerización de la glucosa y/o la fructosa por medio de un intermediario denominado 1, 2-enediol el cual se deshidrata liberando una molécula de agua (H_2O) formando a su vez un compuesto denominado 3-desoxiglucos-2-eno, compuesto que también se deshidrata liberando otra molécula de agua (H_2O) formando un nuevo compuesto 3,4-desoxiglucoseno con este último se completa la fase de deshidratación liberando la última molécula de agua (H_2O) y formando así el hidroximetilfurfural o HMF (Van Putten et al., 2013 y Villanueva, 2017).

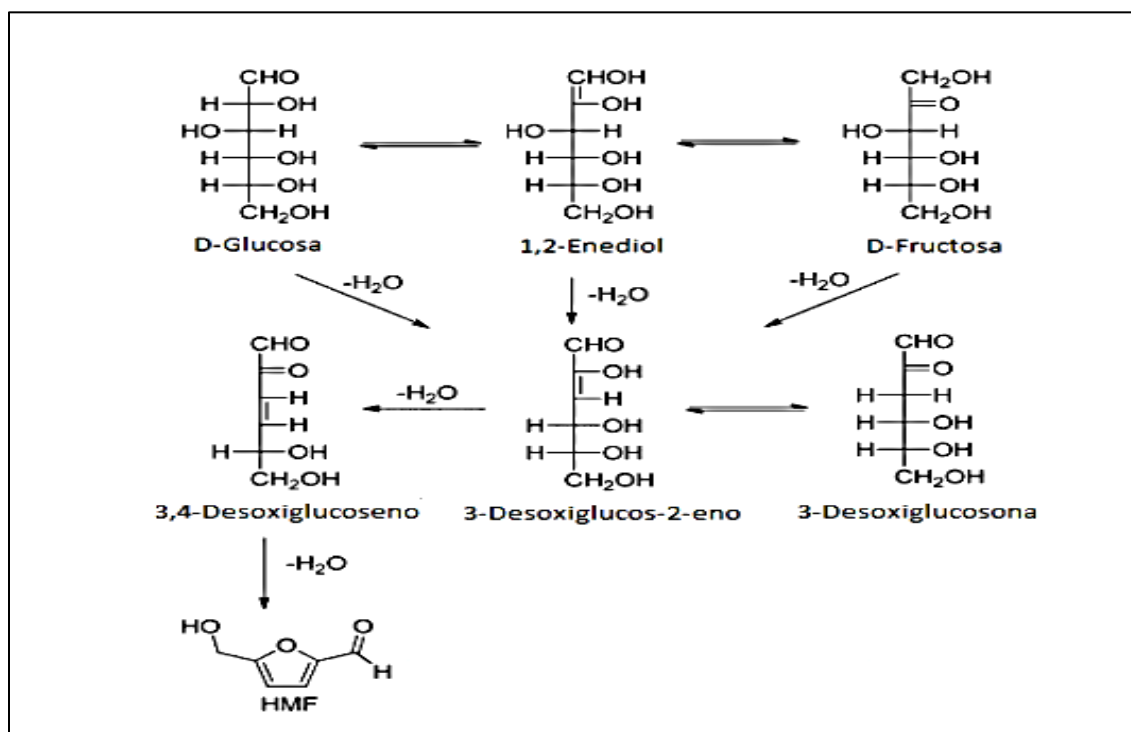


Figura 4. Formación del HMF por medio de la vía acíclica. Mecanismo directo de deshidratación (Van Putten et al., 2013).

En la vía cíclica el mecanismo ocurre a partir de la isomerización de la glucosa a fructosa, esta se deshidrata en un medio acuoso transformándose en fructofuranosa la cual por medio de otras dos deshidrataciones conlleva a la formación del hidroximetilfurfural. Este mecanismo es el que ocurre con mayor frecuencia, debido a que la fructosa es más propensa a convertirse en HMF que la glucosa (Villanueva, 2017 y Van Putten et al., 2013).

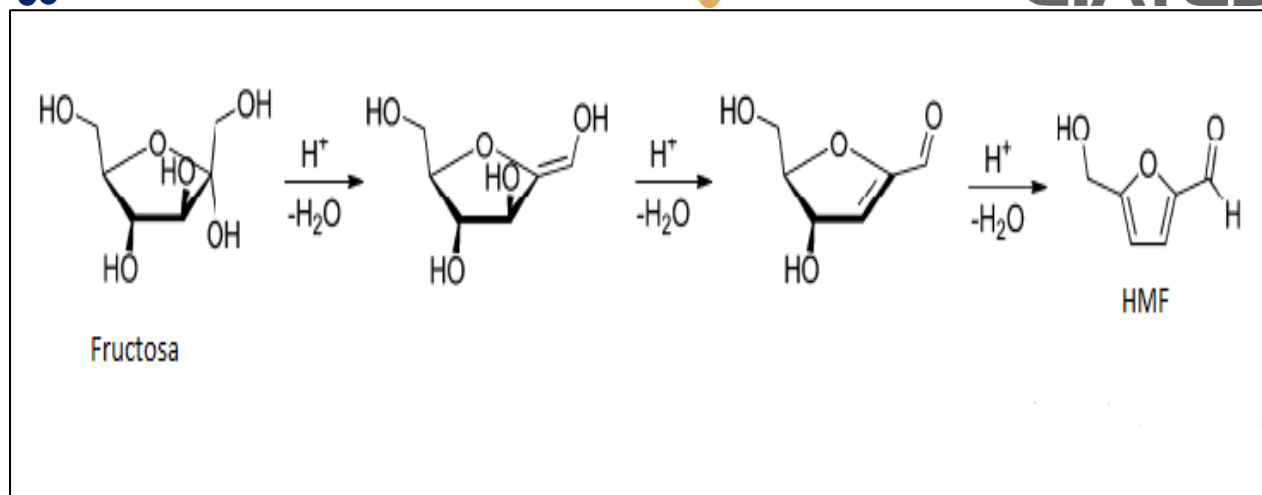


Figura 5. Formación del HMF por medio de la vía cíclica. Mecanismo directo de deshidratación (Van Putten et al., 2013).

3.7.2 La reacción de Maillard y la formación del HMF.

La reacción de Maillard conocida también con el nombre de pardeamiento no enzimático se trata de una reacción compleja que se efectúa cuando los azúcares reductores (grupo carbonilo) se ponen en contacto con un grupo amino de las proteínas (Gómez, 2020). La reacción de Maillard se ve favorecida por el incremento de temperaturas elevadas y el tiempo prolongado de almacenamiento que se le dan a un alimento. Este tipo de reacción se ha convertido en un tema gran interés en la industria alimentaria, pues se encuentra relacionado totalmente con la calidad de un alimento, debido a que su durante su desarrollo se producen una gran cantidad de productos que afectan las características organolépticas (olor, color, sabor, aroma y textura) de un alimento (Gómez, 2020 y d'Almeida et al., 2017).

La reacción de Maillard puede ocurrir de manera inmediata cuando existen ciertas condiciones y características presentes en un alimento. Algunos de estas características que favorecen o aceleran este proceso son los pH alcalinos, las temperaturas elevadas, el contenido de humedad (10 – 15 % presente en el producto), el tipo de aminoácido o azúcar reductor (los monosacáridos son los más propensos) la presencia de algunos metales (cobre y hierro), la luz y el oxígeno. En algunos casos, las bajas temperaturas ayudan al retardo de este proceso, sin embargo, existen casos en el que esta reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente, sobre todo en un almacén con varios productos (Arias y López, 2019 y Osorio et al., 2018). Cuando el azúcar reductor reacciona con un grupo amino libre, ocurre una reacomodación de los productos formando el denominado compuesto de Amadori, durante esta fase el grupo amino es

eliminado formando a su vez compuestos reactivos los cuales son degradados y en consecuencia se da la formación del HMF (Van Putten et al., 2013).

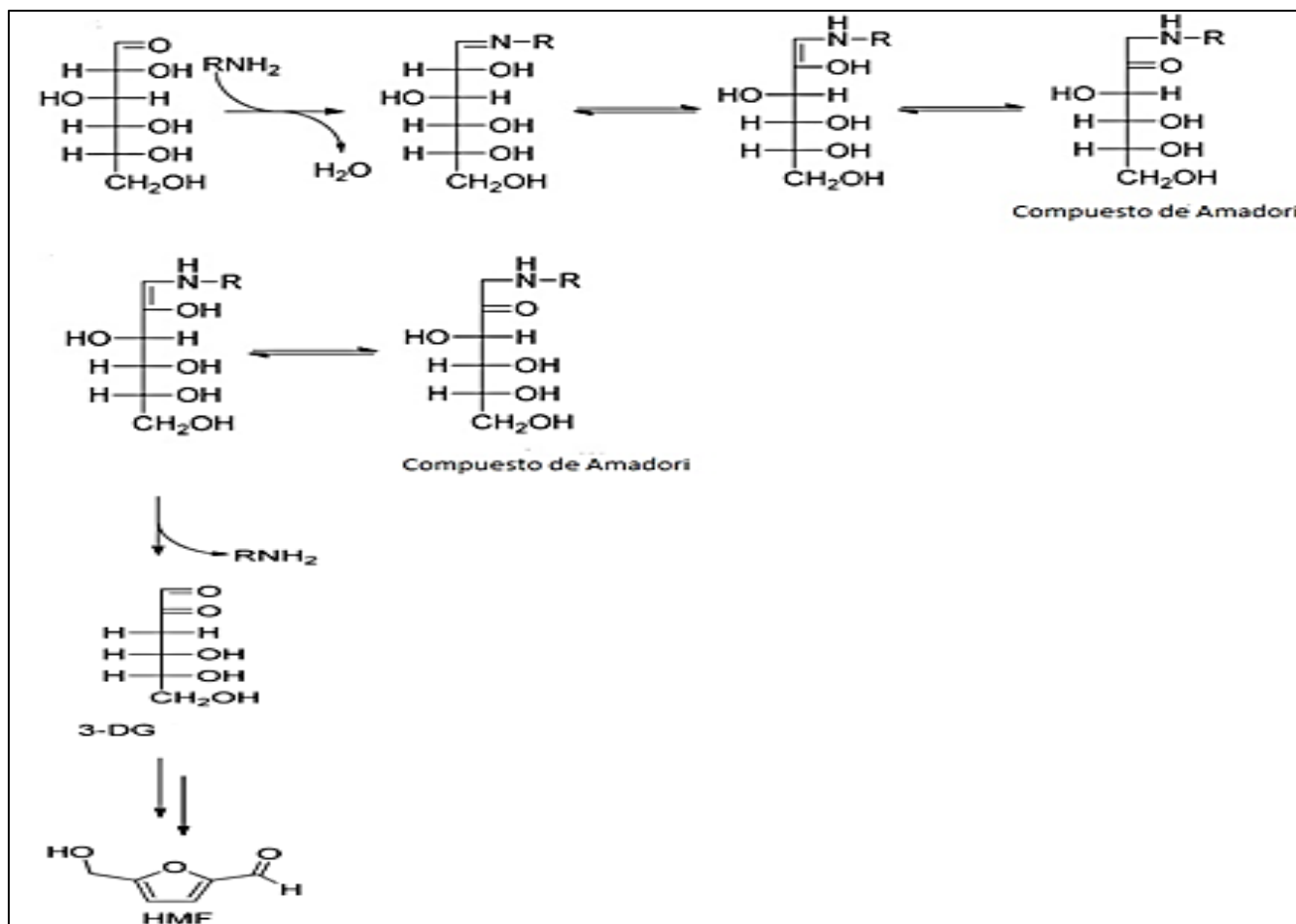


Figura 6. Formación del HMF por reacomodación del compuesto de Amadori (reacción de Maillard). (Van Putten et al., 2013).

3.7.3 Formación del HMF a partir de productos aldólicos.

El gliceraldehído (compuesto degradado) es el resultado de la degradación de los azúcares que ocurre en algunas fases de la reacción de Maillard y/o la caramelización, este compuesto se degrada en otra fase y se forma otro compuesto denominado piruvaldehído; ambos compuestos (gliceraldehído y piruvaldehído) con llevan a la deshidratación de los azúcares para la formación del hidroximetilfurfural. A este fenómeno descrito anteriormente se le conoce como condensación aldólica (Van Putten et al., 2013).

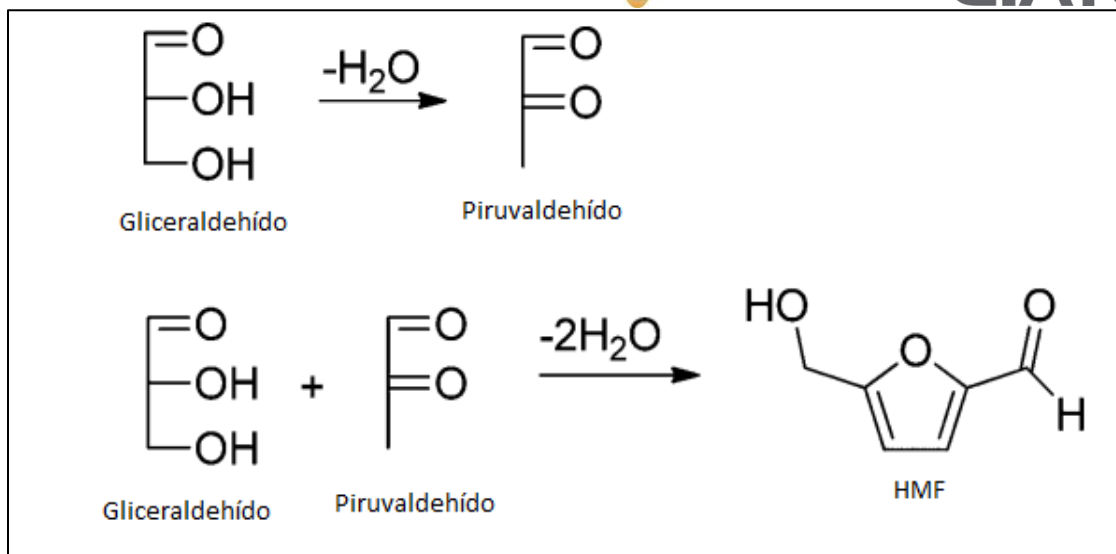


Figura 7. Condensación aldólica. Formación del HMF por medio de productos aldólicos (gliceraldehído y piruvaldehído), (Van Putten et al., 2013).

3.8 Normatividad de la miel.

A nivel mundial es la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en conjunto con la Organización Mundial de la Salud (OMS), los organismos encargados en crear un grupo de normas, códigos y directrices, aprobados internacionalmente con la finalidad de establecer estándares que aseguren la calidad e inocuidad de los alimentos. A este grupo de normas internacionales se le conoce como “El Codex Alimentarius”.

El Codex Alimentarius se encarga de verificar los estándares de la miel a nivel mundial. Existe una norma específica que es aplicada en la miel de abeja de *Apis mellifera* y se le conoce como “Standard for honey, CXS-12-1981” (FAO/OMS, 2023).

En México existe un conjunto de regulaciones técnicas de carácter obligatorio al que se les conoce con el nombre de “Normas Oficiales Mexicanas (NOM)”. Estas normas tienen como objetivo verificar que las empresas cumplan con las determinadas características y requisitos para realizar un proceso, producir un producto y/o servicio; sobre todo si este representa algún riesgo para el consumidor (Secretaría de Salud, 2015).

La Norma Oficial Mexicana que se encarga de la observancia de la miel es la “NOM-004-SAG/GAN-2018, Producción de miel y especificaciones”. El objetivo de la norma es establecer características

generales apropiadas que ayudan al cuidado de las abejas y su correcto desarrollo para la producción de miel y así está logre cumplir con las especificaciones requeridas para su consumo y/o comercialización de tal manera que exista una contribución en el desarrollo de la apicultura nacional y la competencia en la cadena de la miel (DOF, 2020).

En Colombia el organismo encargado de establecer ciertos requisitos es el Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC); este organismo tiene por objeto normalizar, verificar, validar y certificar un proceso, proyecto, técnica y/o servicio para la mejora de calidad en la sociedad. La Norma Técnica Colombiana “NTC-1273, Miel de abejas” esta norma se aplica para todo tipo de miel producida por la abeja *Apis mellifera* (ICONTEC, 2007).

3.8.1 Límites permisibles para la cuantificación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF).

Todo parámetro a determinar requiere ser evaluado de acuerdo con alguna norma o estándar aprobada a nivel nacional o internacional con la finalidad de otorgar ciertos límites que indican si el producto cumple o no con los requisitos. La tabla que se muestra a continuación (Tabla 1) muestra el límite máximo permisible que debe contener una miel con relación a su contenido de hidroximetilfurfural (HMF) y su resultado esta expresado en mg/kg.

Tabla 1. Límite permisible del contenido de HMF en la miel para Colombia, México y el mundo. Fuente: Elaboración propia con datos de la NOM-004-SAG/GAN-2018. Producción de miel y especificaciones, NTC-1273. Miel de abejas y CXS 12-1981, Rev. 1987 y 2001 (DOF, 2020; ICONTEC, 2007 y FAO/OMS, 2023).

Zona geográfica	Autor y/o dependencia	Norma y/o estándar	Parámetro a evaluar	Límite máximo permisible en kg	Límite máximo permisible en 100 g
Colombia	ICONTEC	NTC-1273. Miel de abejas	HMF	60 mg/kg	Máximo 6 mg/100 g
México	DOF/Normas Oficiales Mexicanas	NOM-004-SAG/GAN-2018. Producción de miel y especificaciones	HMF	Mieles en general: 40 mg/kg; Mieles tropicales: 80 mg/kg	Mieles en general: 4 mg/100 g; Mieles tropicales: 8 mg/100 g
El mundo	Codex Alimentarius-FAO/OMS	CXS 12-1981, Rev. 1987 y 2001. Estándar para la miel	HMF	Mieles en general: 40 mg/kg; Mieles tropicales: 80 mg/kg	Mieles en general: 4 mg/100g; Mieles tropicales: 8 mg/100 g.

3.8.2 Límites permisibles para la cuantificación de azúcares reductores directos (ARD).

Los carbohidratos al ser mayor componente de la miel necesitan ser evaluados (cuantificados de acuerdo a la normatividad), especialmente los monosacáridos o azúcares reductores (fructosa y glucosa) que representan el gran parte del total de los azúcares. De acuerdo con la normatividad a nivel internacional (Codex Alimentarius) se establece que la cantidad mínima de azúcares (glucosa y fructosa) en mieles de abeja debe ser 60 g/ 100 g de miel (60 %) y para las mieles de mielada o mezcla de mieles el límite mínimo se establece en los 45 g/ 100 g de miel (45 %); esta condición también es cumplida por la Norma Técnica Colombiana “NTC-1273, Miel de abejas” y por su parte en México la Norma Oficial Mexicana “NOM-004-SAG/GAN-2018, Producción de miel y especificaciones” establece un solo límite general para mieles y es el contener por lo menos 60 g/ 100 g de miel (60 %) (FAO/OMS, 2023; ICONTEC, 2007 y DOF, 2020).

3.9 Método espectrofotométrico de White para determinar el contenido de hidroximetilfurfural

Fue en 1979 cuando se publicó en la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) un artículo propuesto por Jonathan W. White, Jr. para determinar el contenido de hidroximetilfurfural (HMF) en muestras de miel. La idea surgió como una alternativa de encontrar un nuevo método que sustituyera los métodos propuestos por Winkler (método UV y método químico) de 1955, debido a que con base en estudios realizados por la AOAC y otros investigadores descubrieron que este tipo de métodos pueden llegar a presentar resultados irregulares con ciertas muestras de miel (White, 1979).

El método espectrofotométrico de White en aquel entonces conocido como el método del bisulfito consiste en determinar la absorbancia de luz Ultravioleta (UV) en dos alícuotas de miel clarificada, una que contenga agua destilada (Muestra) junto a otra que contiene el mismo volumen, pero de bisulfito de sodio (Referencia). La absorbancia es determinada en dos longitudes de onda (284 nm y 336 nm), estas longitudes fueron establecidas de acuerdo al rango de absorbancia promedio que existe entre las alícuotas clarificadas, que va desde 330 nm hasta 250 nm logrando ser 284 nm la longitud de onda más alta que se percibe (White, 1979).

Para la realización del método se requieren de tres soluciones fundamentales: solución Carrez I (ferrocianuro de potasio trihidratado), solución Carrez II (acetato de zinc dihidratado) y la solución de bisulfito de sodio (NaHSO_3) al 0.2 %. El bisulfito de sodio (NaHSO_3) es utilizado por su capacidad para destruir al HMF en la longitud de onda 284 nm. Se requiere también de un espectrofotómetro con la capacidad para leer distintas longitudes de onda, sobre todo en la región ultravioleta (UV) (White, 1979).

La absorbancia medida en la longitud de onda 284 nm no debe sobrepasar el valor 0.6, y cuando esto ocurre la “Muestra” se tiene que diluir con agua destilada y la “Referencia” con NaHSO_3 , con el fin de obtener valores de absorbancia bajas para la precisión (Almeida-Muradian et al., 2020 y White, 1979).

En el estudio realizado por White en 1979 se realizó la comparación del nuevo método (método del bisulfito). La siguiente tabla (Tabla 2) muestra los resultados que se generaron al realizar la comparación de los datos obtenidos por los tres distintos métodos. De acuerdo con el análisis se aprecia que no hay una diferencia estadística significativa entre el método químico de Winkler (toluidina) y el método del bisulfito; mientras que el método UV de Winkler tiene una diferencia estadística significativa en comparación con los otros dos métodos.

Tabla 2. Análisis de datos de comparación de distintos métodos realizados en un estudio para la AOAC (White, 1979).

Comparación de métodos	Diferencia de medias	SD	$\overline{SD}$	t	Sig.
Winkler toluidina vs bisulfito	0.23	0.873	0.138	1.67	>0.05
Winkler toluidina vs Winkler UV	2.42	2.89	0.456	5.31	<0.001
Bisulfito vs Winkler UV	2.19	2.17	0.343	6.38	<0.001

SD= Desviación estándar, **$\overline{SD}$** = Desviación estándar promedio, **t**= prueba “t” de Student, **Sig.**= diferencia significativa con un 95% de confianza.

Con la propuesta de White se registró en la AOAC un nuevo método para la determinación del contenido de hidroximetilfurfural en la miel; un método que resultó ser preciso y efectivo. De acuerdo con el Codex Alimentarius el método de la toluidina era considerado como el método más efectivo y preciso de aquel tiempo, pero muchos investigadores ya lo estaban erradicando por la utilización de la p-toluidina que fue considerada como una sustancia cancerígena (White, 1979).

El nuevo método espectrofotométrico resultó ser un método bastante preciso y efectivo para determinar hidroximetilfurfural en miel; y a pesar de en aquellos tiempos el método químico de Winkler estaba aprobado por el Codex Alimentarius, ya existían varios investigadores que se oponían a utilizarlo debido a que la p-toluidina resultó ser una sustancia cancerígena (White, 1979).

3.9.1 Espectrofotometría UV y el espectrofotómetro.

La espectrofotometría es una técnica analítica que se utiliza para determinar la cantidad de luz (concentración) presente en una solución. La capacidad que tienen las moléculas de una sustancia para absorber las radiaciones electromagnéticas (energía luminosa) y almacenarla en forma de energía a partir de una determinada longitud de onda se le denomina espectroscopía (Abril et al., 2020).

Al conjunto de longitudes de onda se le conoce como espectro electromagnético, y este se divide en varias regiones entre las cuales se encuentra la región ultravioleta o también conocida como región UV que va desde los 195 nm hasta los 400 nm. La región UV es considerada como una región con una energía muy alta, y debido a ello se utiliza principalmente para el análisis cualitativo y cuantitativo de compuestos

orgánicos, sobre todo en aquellos aromáticos, de doble y triple enlace, con grupos carbonilos y enlaces peptídicos (Abril et al., 2020).

El espectrofotómetro es un instrumento utilizado en espectrofotometría y sirve para medir el espectro de absorción completo que se encuentra presente en una sustancia. Este equipo se encuentra conformado principalmente por una fuente de luz, un dispositivo de enfoque, un filtro de luz, un fotodetector, una celda de absorción y un dispositivo de visualización. La función del espectrofotómetro es emitir un haz de luz por medio de una muestra y a partir de esto determinar su absorbancia (cantidad de luz absorbida por la muestra) y su transmitancia (cantidad de luz que atraviesa la muestra) en función de una longitud de onda específica (García, 2018).



Figura 8. Espectrofotómetro UV-Vis modelo Jenway.

3.9.2 La importancia de las soluciones de Carrez.

El ferrocianuro de potasio trihidratado $[\text{Fe}(\text{CN})_6 \text{K}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ al 15 % (Carrez I) y el acetato de zinc $[(\text{AcO})_2 \text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ al 30 % (Carrez II) son dos soluciones primordiales utilizadas comúnmente en determinaciones espectrofotométricas como agentes clarificantes para la eliminación de sólidos insolubles y/o sustancias que puedan interferir durante la lectura de la muestra en el espectrofotómetro. Las muestras clarificadas pueden ser leídas con seguridad (Paseiro y Simal, 1984 y Ruiz et al., 2011).

Las soluciones de Carrez necesitan la ayuda de algún mecanismo y/o técnica que complemente la eliminación de las partículas indeseadas en la muestra. La técnica de filtración se realiza después de la clarificación con las soluciones Carrez y por medio de ella se eliminan aquellas partículas que no fueron eliminadas por completo (Paseiro y Simal, 1984). Algunos autores recomiendan el uso de las soluciones

Carrez como clarificantes en productos como el cereal debido a la posible producción de HMF que este puede producir a partir de la glucosa (Ruiz et al., 2011).

3.10 Método DNS o técnica de Miller.

El método DNS o técnica de Miller es una técnica colorimétrica que emplea el reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) el cuál reacciona únicamente con los azúcares reductores. La técnica se basa en cuantificar los azúcares reductores producidos por medio de una fermentación y/o una reacción enzimática. (Muñoz y Vega, 2014).

El reactivo DNS (ácido 3,5 dinitrosalicílico) está conformado por ácido dinitrosalicílico, sales de Rochelle (tartrato de sodio y potasio), fenol, bisulfito de sodio e hidróxido de sodio. La sal de Rochelle tiene como función evitar la oxidación del reactivo, el fenol se aplica para aumentar la cantidad del color, el bisulfito de sodio estabiliza el color obtenido y el hidróxido de sodio reduce la acción que tiene la glucosa sobre el ácido dinitrosalicílico (Miller, 1959).

Esta técnica descrita por Miller (1959) se realizó con la finalidad de determinar los azúcares reductores por medio de un compuesto y/o reactivo modificado (ácido 3,5 dinitrosalicílico). Las pruebas se realizaron utilizando un reactivo ya existe (0.63 % ácido dinitrosalicílico, 18.2 % de sales de Rochelle, 0.57 % de fenol, 0.5 % de bisulfito de sodio y 2.14 % de hidróxido de sodio) y el reactivo modificado (ácido dinitrosalicílico al 1 %, fenol al 0.2 %, sulfito de sodio al 0.05 % e hidróxido de sodio al 1 %. El procedimiento consistió en tomar catorce alícuotas de 3 ml del reactivo a las que se les añadió una solución de glucosa del mismo volumen, luego se sometieron a baño maría durante 5 minutos y se enfriaron con agua a temperatura ambiente, finalmente la intensidad del color fue medida en un espectrofotómetro en la longitud de onda de 575 nm.

De acuerdo con el método de Miller, los azúcares reductores son capaces de reducir el reactivo DNS bajo ciertas condiciones. Es decir, cuando el DNS entra en contacto con los azúcares reductores y es sometido a un tratamiento térmico; el DNS es reducido por la presencia del calor y debido a eso se origina un cambio de color con variaciones que van desde el amarillo hasta un tono de color café (Ávila et al., 2012).

3.11 Validación de un método.

La validación de un método se define como un proceso que sirve para evaluar y confirmar que el procedimiento analítico seleccionado es el adecuado para ser utilizado. Se trata de una actividad de uso

indispensable para tener la seguridad de que el objeto de estudio cumpla con los requisitos necesarios para su uso. Todo proceso o método de medición debe ser validado. La validación se vuelve necesaria cuando el procedimiento y/o método utilizado permite libertades a quién lo desarrolle, por ejemplo, que los resultados obtenidos mediante su aplicación varíen significativamente como una consecuencia (Lazos y Hernández, 2004).

La norma ISO 9000:2015 define a la validación “como la confirmación, mediante aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista”. El resultado de un ensayo es la evidencia necesaria para comprobar la validación de un método (ISO, 2015).

3.11.1 Validación de un método de acuerdo a su precisión.

La precisión se define como la cercanía que existe entre los valores de una determinada serie de medidas de acuerdo a un mismo parámetro. La medición de la precisión de un método hace referencia a calcular la desviación estándar. (Stewart, 2021).

La norma ISO 5725 define a la precisión como la proximidad de la concordancia que hay entre resultados evaluados por pruebas independientes y obtenidos mediante condiciones estipuladas (ISO, 1994).

La precisión de un método puede ser evaluada mediante términos de repetibilidad y reproducibilidad; y el resultado se evalúa de acuerdo a la imprecisión de los valores obtenidos (desviación estándar).

Repetibilidad: Es el resultado que se obtiene cuando el método analítico es aplicado por el mismo analista, en el mismo laboratorio, utilizando los mismos equipos, y en tiempos cortos de intervalo. La repetibilidad es medida de acuerdo a la desviación estándar (S_r) y el porcentaje de coeficiente de variación ($CV_r\%$) (Zambrano y Ortega, 2015).

Reproducibilidad: Es el resultado que se obtiene cuando el método analítico es aplicado por diferentes analistas, en distintos laboratorios, y utilizando equipos distintos. La reproducibilidad es medida de acuerdo a la desviación estándar (S_r) y el porcentaje de coeficiente de variación ($CV_r\%$) (Zambrano y Ortega, 2015)

3.12 El clima tropical.

Existen distintos tipos de clima en el mundo, cada uno de ellos predomina de acuerdo a las condiciones y/o características de la región. El clima tropical es un tipo de clima que se ubica en las regiones cerca del

ecuador, entre los que se incluyen a América del sur y Centroamérica. La característica particular de este tipo de clima es su temperatura cálida por encima de los 18 °C. Un clima tropical también se identifica por la frecuencia de lluvias, por sus zonas selváticas y boscosas y en algunos casos por áreas desérticas (Arriols, 2018)

3.13 El clima en Yucatán.

El clima en Yucatán, México oscila entre los 28 °C y 35 °C en gran parte del año; esta característica se debe a la ubicación geográfica del estado que se posiciona cerca del trópico de Cáncer. Debido a sus características el clima predominante en Yucatán se considera como clima subtropical-tropical (Lifeder, 2020)

Según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en la gran parte de la región predomina un clima tropical cálido subhúmedo y solo una minoría presenta un clima cálido seco y semiseco. La zona selvática predomina en el estado (INEGI, 2022).

3.14 El clima en Colombia.

Colombia es un país que cuenta con una gran diversidad climática debido a sus zonas altamente montañosas, lo que provoca que los distintos climas existentes se pierdan entre sí, sin que exista una frontera que limite una zona geográfica en específico. Uno de los climas más predominantes de Colombia es el clima tropical lluvioso que se encuentra distribuido en más del 80 % del territorio (Eslava, 1993).

IV. Planteamiento del problema.

Una de las problemáticas a considerar en el mercado de la miel, es generar un cierto valor agregado a través de su caracterización, por medio de algunos parámetros fisicoquímicos que sirven para determinar la calidad de las mieles.

La calidad en un alimento se ve determinada por un conjunto de parámetros que, al ser evaluados de acuerdo a cierto tipo de estándares, logran generar una calificación que determina seguridad alimentaria, confianza y aceptación por parte de los consumidores. Estos parámetros son evaluados de acuerdo a técnicas o métodos ya establecidos a nivel nacional o internacional.

La miel al ser un alimento tan complejo, de alto valor cultural y reconocido a nivel mundial, por los múltiples beneficios que genera; necesita ser evaluada con respecto a su calidad. En el mercado de la miel se exige como requisito obligatorio comercializar con mieles de buena calidad. Existen distintos parámetros que sirven para evaluar la calidad en la miel, pero siempre existe uno o algunos que son exigidos con mayor frecuencia.

La competencia en el mercado de la miel a nivel mundial se disputa cada vez más entre países asiáticos, europeos y americanos. El continente americano contiene excelentes candidatos que forman parte de las primeras filas en producción y comercialización de miel; México es uno de esos países, y la miel que este comercializa se considera de buena calidad. Sin embargo, la mayoría de esa miel se sigue comercializando a granel, y su competencia con otros países cada vez se vuelve más fuerte, por lo que se ha buscado mejorar la producción y comercialización de las mieles mexicanas.

Por su parte, Colombia produce miel en menores cantidades, esto debido a las grandes problemáticas que ha tenido que enfrentar para poder desarrollarla. A nivel nacional su miel es muy apreciada, pero a nivel internacional pocos son los que la consideran de buena calidad, debido a lo anteriormente mencionado Colombia pretende mejorar el concepto que se tiene de las mieles colombianas.

V. Justificación.

La miel es un alimento que se conoce y se consume desde el periodo mesolítico (7000 a.C.). Gracias a que cuenta con una composición compleja, el ser humano ha sabido aprovecharla de manera exitosa para obtener de ella propiedades nutritivas y medicinales (Ulloa et al., 2010). Se trata de un bien realizado por abejas gracias a la implementación de una actividad agropecuaria denominada apicultura, la cual se desarrolla en todo el mundo con la finalidad de producir esta sustancia viscosa para su consumo y/o comercialización (Ramírez et al., 2022).

Es un alimento de alto valor cultural, muy popular en todas partes del mundo por los múltiples beneficios que genera desde el inicio de su elaboración. Con el paso del tiempo se ha convertido en producto de gran importancia económica, por lo que siempre se ha buscado generarle cierto valor agregado a partir de sus orígenes y de la calidad que presente (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), 2005 y Minagricultura-MA, 2018).

En nuestro país es considerada como una de las mejores y de las más cotizadas en el mundo debido a su alta calidad. (Secretaría de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2016). En el año 2021 México se posicionó como el noveno productor de miel a nivel mundial y como el décimo tercer exportador de este producto a países como Alemania, Reino Unido, Bélgica, Arabia Saudita y Estados Unidos (SADER, 2022).

La región Sureste es considerada como la principal fuente productora de miel; tan solo en el año 2019 de las 61.9 mil toneladas producidas, el 71% de esta producción se concentró en ocho estados de la república, entre los que se posiciona el estado de Yucatán como líder con un total 9.8 mil toneladas seguido por Campeche con 7.5 mil toneladas (SADER, 2020).

Por otra parte, Colombia no es considerado como un gran rival en el mercado de la miel. De acuerdo con el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (Minagricultura-MA, 2018) Colombia ocupaba el puesto 59 en producción a nivel mundial y el octavo a nivel Latinoamérica con aproximadamente 4 mil toneladas.

Montes de María es una subregión montañosa que comprende algunos municipios de los departamentos de Sucre y Bolívar. Según (Minagricultura-MA, 2018) un gran número de colmenas se encuentran presentes en la zona, las cuales ayudan a producir alrededor de 200 a 330 toneladas de miel de abeja. Por

lo que se ha considerado cuadruplicar el número de colmenas para mejorar la producción, sobre todo en Sucre, pues de esta forma se generaría un mejor valor agregado.

El índice de frescura es una de las principales características a medir para determinar la calidad de un alimento. En el caso de una miel se puede evaluar esta característica por medio de un parámetro fisicoquímico denominado hidroximetilfurfural (HMF). Con la determinación del contenido de HMF se pueden saber ciertas cuestiones como por ejemplo el tiempo y las condiciones de almacenamiento, su tratamiento recibido durante su cosecha e incluso su edad (Villar et al., 2015 y Ulloa et al., 2010).

Se dice que el HMF se genera en las mieles debido a la degradación de algunos compuestos azucarados (Da Silva et al., 2015; Fuentes et al., 2018 y Villar et al., 2015). A estos compuestos se les conoce como azúcares reductores (fructosa y glucosa). Son muy fáciles de oxidar mediante distintos mecanismos de deshidratación, debido a este fenómeno es que existe el HMF en las mieles y en algunos otros alimentos (Tun, 2014 y Solares, 2013).

Existen distintos métodos para determinar el contenido de HMF en las mieles. El método espectrofotométrico de White (1979) es un método efectivo para evaluar el contenido de HMF y es totalmente aprobado por organizaciones internacionales como el Codex Alimentarius y la IHC (International Honey Commission, 2009 y FAO/OMS, 2022).

Con lo mencionado anteriormente se tiene la intención de evaluar la calidad de las mieles (*Apis mellifera*) procedentes de Yucatán, México y Montes María, Colombia con relación a su contenido de hidroximetilfurfural y por medio de este parámetro determinar su calidad para poder compararlas con la finalidad de generarles cierto valor agregado. Asimismo, se pretende evaluar su contenido de azúcares reductores directos comprobando la teoría que afirma que la degradación de azúcares (fructosa y glucosa) conllevan a la producción de HMF en las mieles.

VI. Objetivos.

6.1 Objetivo general:

- Evaluar y comparar la calidad de muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*) procedentes de Montes de María, Colombia y Yucatán, México en relación a su contenido de hidroximetilfurfural (HMF) y su cambio durante el almacenamiento.

6.2 Objetivos específicos:

- Evaluar la temperatura ambiente de almacenamiento de las muestras de miel analizadas.
- Validar y estandarizar la técnica espectrofotométrica para la cuantificación de hidroximetilfurfural.
- Determinar y cuantificar el contenido de HMF en las muestras de miel almacenadas a temperatura ambiente y observar sus cambios con el tiempo de almacenamiento.
- Determinar y cuantificar los azúcares reductores directos (ARD) en las muestras de miel y observar sus cambios con el tiempo de almacenamiento.
- Realizar una correlación entre el incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD de las muestras de miel analizadas.

VII. Hipótesis.

Las muestras de miel (*Apis mellifera*) procedentes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia aumentan su concentración en contenido de hidroximetilfurfural (HMF) cuando existe una degradación de los azúcares reductores (principalmente fructosa) y se ve influenciada por factores como la temperatura y el tiempo de almacenamiento.

VIII. Materiales y métodos.

En este apartado se describen los materiales y los procedimientos que se utilizaron para la realización de las pruebas fisicoquímicas (hidroximetilfurfural y azúcares reductores) aplicadas en las muestras de miel (*Apis mellifera*) procedentes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia.

8.1 Descripción de las muestras.

Se recolectaron un total de quince muestras de miel (*Apis mellifera*) de distintas zonas geográficas del Estado de Yucatán, México; las cuales fueron cosechadas en el año 2022 y se enumeraron de acuerdo al sistema de numeración natural (1,2,3,4...). Sin embargo, una de las muestras (Muestra No. 10- POTI-TZ) fue eliminada debido a que presentó características de fermentación.

Por otra parte, de Colombia se recolectaron dos muestras comerciales y estas se enumeraron con la siguiente denominación C1 (16) y C2 (17). En general se tuvieron dieciséis muestras de miel, con las cuales se comenzaron los primeros análisis de HMF y ARD.

Finalmente, unas semanas después llegaron otras cuatro mieles de abeja (*A. mellifera*) provenientes de distintas zonas de Montes de María, Colombia; las cuales fueron cosechadas entre 2021 y 2022 y se enumeraron de acuerdo con la siguiente denominación A (18), B (19), C (20) y D (21). Por lo que se terminó evaluando un total de veinte muestras de miel (*A. mellifera*).

En la tabla que se muestra a continuación (Tabla 3) se aprecian de mejor manera algunas de las características generales de las muestras de miel (*A. mellifera*) procedentes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia que se utilizaron para cumplir los objetivos de esta experimentación.

Tabla 3. Datos generales de las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas.

No. de muestra	Código	Floración	Localidad	Fecha de Cosecha
1	SIP-PT	Palo de tiente	Sierra papacal	08/03/2022
2	ACEK-DZ	Dzidzilche	Acanceh	11/03/2022
3	ACEK-JA	Jabin	Acanceh	11/04/2022
4	PIHOL-TD	Tahonal-Dzidzilche	Pixyah, Holenchen	02/03/2022
5	PIHOL-DJ	Dzidzilche-Jabin	Pixyah, Holenchen	28/03/2022
6	TAH-BM	Box Muk	Tahdziu	15/02/2022
7	TAH-DZ	Dzidzilche	Tahdziu	10/03/2022
8	TAH-JA	Jabin	Tahdziu	25/03/2022
9	POTI-DZ	Dzidzilche	Popolnah, Tizimín	28/03/2022
11	POTI-TX	Tahonal-xtabentun	Popolnah, Tizimín	10/02/2022
12	PE-DZ	Dzidzilche	Peto	15-17/03/2022
13	PE-DZJACHA	Dzidzilche, Jabin-Chaká	Peto	12-13/04/2022
14	PE-CHAJA	Chaká-Jabin	Peto	4-5/05/2022
15	PE-TAVESOL	Tahonal, Vejucó, Solen AK.	Peto	23/02/2022
C1 (16)	COL-CR	Celda real*	San Jacinto, Bolívar	-----
C2 (17)	COL-DP	Del panal*	San Jacinto, Bolívar	-----
A (18)	COL-CZ	Chico, Zarza	Baja-el salado	22/08/2022
B (19)	COL-SCE	Santa cruz, Emelina	Baja-el salado	10/04/2022
C (20)	COL-CAZIO	Campanilla, Zio	Media-Vereda Padula	20/12/2021
D (21)	COL-CZMB	Campanilla, Zio, Mararraton, Bara de humo	Alta-Canzona	20/12/2021

*Marca comercial

La figura que aparece a continuación (Figura 9) contiene las zonas geográficas (apiarios) de donde se recolectaron las distintas muestras de miel (*A. mellifera*) del Estado de Yucatán.

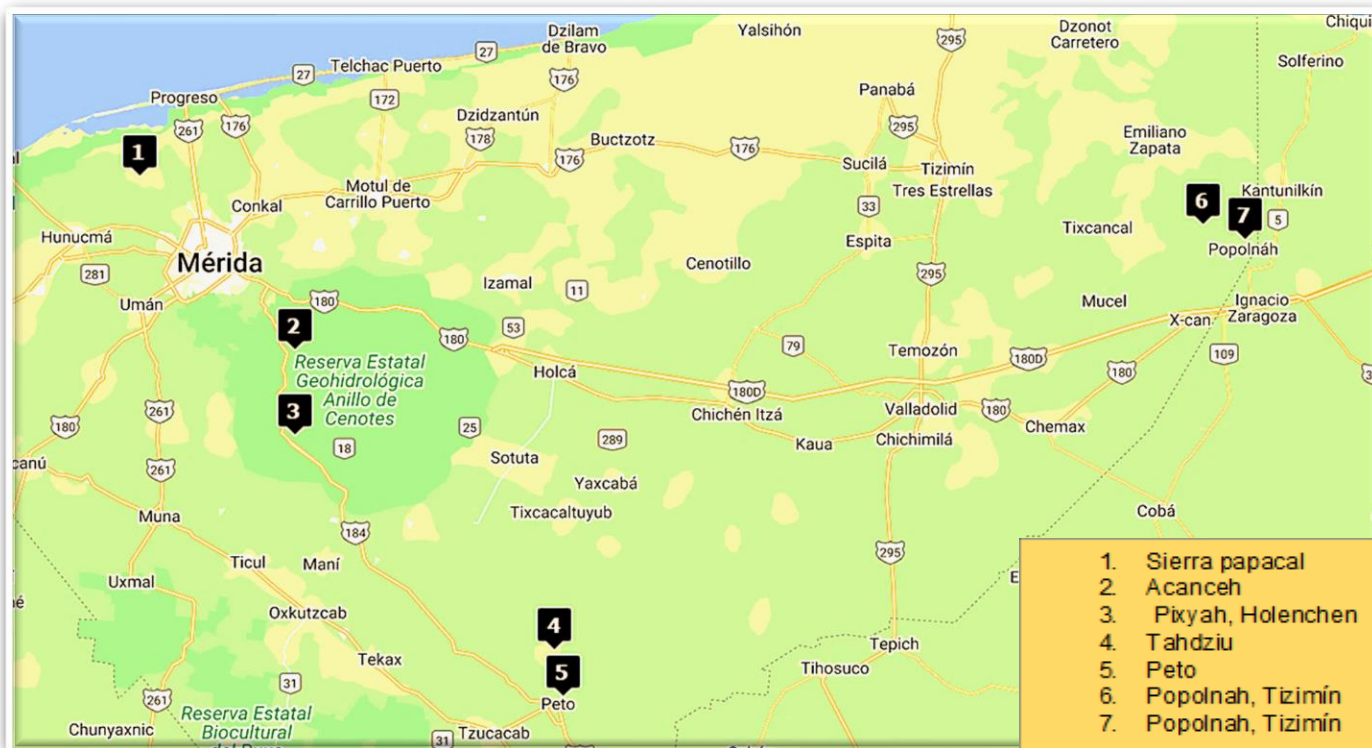


Figura 9. Zonas geográficas (apiarios) de recolección de las muestras de miel de Yucatán.

8.2 Evaluación de la temperatura ambiente de almacenamiento.

Las mieles fueron almacenadas en frascos de vidrio esterilizados desde el primer día de su llegada en un lugar fresco y seco totalmente cerrado, el cual fue constantemente limpiado con agua destilada y alcohol etílico para evitar la aparición de insectos y/o plagas que alteren su contenido. Durante el tiempo de almacenamiento se evaluó la temperatura ambiental con la ayuda de un termómetro de mercurio; las mediciones se realizaron diariamente en dos tiempos, por la mañana (9:00 h) por la tarde (17:00 h) y se registró una temperatura promedio por día.



Figura 10. Almacenamiento de las muestras de miel.

8.3 Validación y estandarización del método espectrofotométrico (UV) de White mediante la prueba de precisión.

La validación y estandarización del método se realizó por medio de una prueba de precisión; utilizando 2.0 g de la muestra de miel (Muestra No. 6 -TAH-BM, proveniente de la localidad Tahdziu, Yucatán, México con floración Box Muk), la cual se evaluó en tres días consecutivos (24, 25 y 26 de agosto de 2022). El análisis se realizó por triplicado, midiendo la temperatura ambiente de almacenamiento. El resultado se evaluó con base en un análisis de varianza simple (ANOVA) con la finalidad de observar similitud o diferencia estadística entre las concentraciones HMF (mg/100 g) obtenidas durante la evaluación de la prueba; y se utilizó la repetibilidad (desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV%)) para comprobar la eficacia y eficiencia del método.

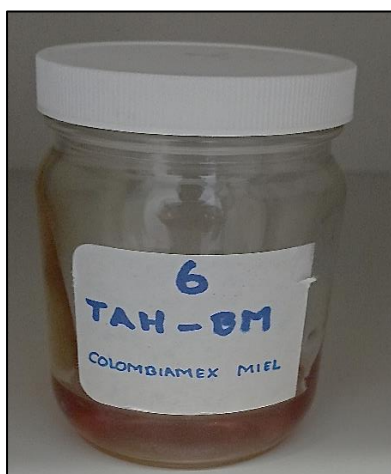


Figura 11. Muestra No. 6 TAH-BM

8.4 Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF).

La determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF) se realizó por duplicado en veinte muestras de miel (*Apis mellifera*) procedentes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia almacenadas a temperatura ambiente.

El análisis se efectuó de la siguiente manera:

Una parte de las muestras provenientes de Yucatán (SIP-PT, ACEK-DZ, ACEK-JA, PIHOL-TD, PIHOL-DJ, TAH-BM, TAH-DZ y TAH-JA) fueron determinadas en las semanas 0, 2, 4, 6 y 8, cumpliendo un periodo de ocho semanas de almacenamiento; por su parte, el resto de las muestras procedentes de Yucatán (POTI-DZ, POTI-TX, PE-DZ, PE-DZJACHA, PE-CHAJA y PE-TAVESOL) y Montes de María, Colombia (COL-CR y COL-DP) fueron analizadas en las semanas 0, 1, 3, 5, 7 y 8, ejecutando un periodo de ocho semanas de almacenamiento; y finalmente las últimas muestras provenientes de Montes de María, Colombia (COL-CZ, COL-SCE, COL-CAZIO y COL-CZMB) se determinaron en las semanas 0, 2, 4 y 6 generando un periodo de seis semanas de almacenamiento.

Para la determinación de hidroximetilfurfural (HMF) se ocupó el método espectrofotométrico de White (1979) con algunas modificaciones.

8.4.1 Materiales y equipos (determinación de HMF).

Tabla 4. *Materiales y equipos utilizados para las determinaciones HMF en muestras de miel.*

Materiales	Equipos
• Tubos Falcón • Vasos de precipitado • Jeringas de 5 ml • Embudo de vidrio • Matrices Erlenmeyer • Papel filtro • Probeta • Puntas para micropipeta (5 ml y 1 ml) • Celda de cuarzo	• Espectrofotómetro UV-Vis modelo Jenway 6715. • Balanza analítica • Agitador Vórtex • Micropipetas (5 ml y 1 ml)

8.4.2 Preparación de las soluciones.

Para realizar este método se utilizan tres soluciones fundamentales para lograr la determinación. Una de ellas es la solución Carrez I (ferrocianuro de potasio trihidratado) que se prepara disolviendo 15 g en 100 ml de agua destilada; la otra solución es la Carrez II (acetato de zinc dihidratado) en la que 30 g se diluyen en 100 ml de agua destilada; y el bisulfito de sodio al 0.2 %, el cual se debe preparar fresco (White, 1979).

8.4.3 Preparación de la muestra.

El procedimiento del método consistió en pesar 2.5 g de miel, diluir a un volumen de 25 ml de agua y transferirlo a un matraz aforado de 50 ml; en dónde se le adicionaron 0.5 ml de solución Carrez I y 0.5 ml de la solución Carrez II; se mezcló y se terminó de aforar con agua destilada. Luego se filtró la solución utilizando papel filtro y un embudo de vidrio y se eliminaron los primeros 10 ml del filtrado. A continuación, se tomaron 5 ml de los filtrados y se añadieron a un tubo de ensayo al que se le adicionaron 5 ml de agua destilada y se le denominó “Muestra”; de la misma manera se tomaron otros 5 ml de los filtrados se adicionaron a otro tubo de ensayo y se le incorporan 5 ml de bisulfito de sodio (NaHSO_3) al 0.2 %; y se le denominó “Referencia”. Finalmente se mezclaron todas las soluciones y se determinó la absorbancia en 284 nm y 336 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis modelo Jenway.

Para aquellas muestras que presentaron una absorbancia mayor de 0.6 se utilizó un peso menor de lo acordado, con el fin de obtener una disolución de menor concentración y que las lecturas de absorbancia no sobrepasen el valor 0.6.



Figura 12. Análisis para evaluar el contenido HMF en las muestras de miel *A. mellifera*.

8.4.4 Cuantificación del contenido de HMF en muestras de miel.

Para la cuantificación del contenido de hidroximetilfurfural se utilizó la siguiente formula:

$$\text{Ecuación 2. Hidroximetilfurfural. HMF} \frac{\text{mg}}{100\text{g}} = \frac{(A1 - A2) * (F * 5)}{P}$$

Donde:

A1= Absorbancia medida a 284 nm

A2= Absorbancia medida a 336 nm

F= 14.97, es el factor que se usa para poder expresar el resultado en mg/100 g de miel

P= Peso nominal de la muestra en gramos.

8.4.5 Análisis estadístico de las determinaciones HMF.

Se realizaron varios análisis de varianza simples (ANOVAS) con la finalidad de observar similitudes y/o diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos. Los ANOVAS se realizaron con el apoyo de la herramienta “Statgraphics” y se efectuaron de la siguiente manera: un ANOVA por cada muestra de miel analizada desde su primer análisis hasta su última determinación (20 ANOVAS), y dos ANOVAS (uno de la concentración inicial y otro de la concentración final del contenido HMF (mg/100 g) de todas las muestras analizadas).

La figura que aparece a continuación (Figura 13) muestra de manera sintetizada cada uno de los pasos que se siguieron para la realización de las determinaciones del contenido HMF analizado en las distintas muestras de miel (*Apis mellifera*) procedentes de Yucatán, México y de Montes de María, Colombia.

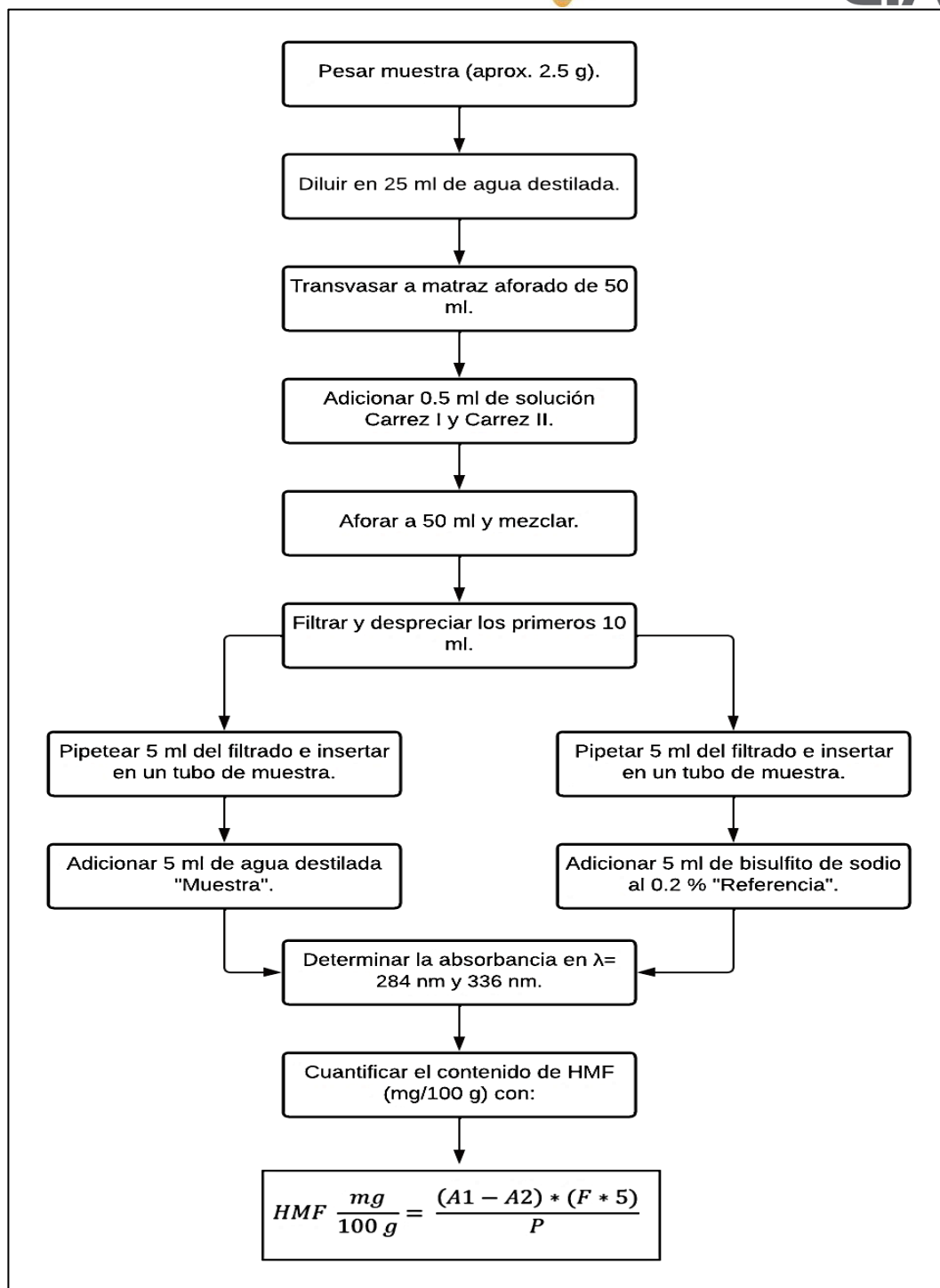


Figura 13. Diagrama del proceso de determinación HMF en muestras de miel.

8.5 Determinación del contenido de azúcares reductores directos (ARD).

Las determinaciones de azúcares reductores directos (ARD) se efectuaron en veinte muestras de miel (*Apis mellifera*) provenientes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia almacenadas a temperatura ambiente. Los análisis se realizaron por duplicado y se llevaron a cabo en las mismas semanas en las que se realizaron las determinaciones de HMF.

El procedimiento a seguir se muestra a continuación:

Para la determinación de los azúcares reductores directos (ARD) se utilizó una técnica colorimétrica conocida como el método DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) o técnica de Miller (1959) de acuerdo con las especificaciones con las que se trabaja en CIATEJ Subsede Sureste.

8.5.1 Materiales y equipos (determinación de ARD).

Tabla 5. *Materiales y equipos utilizados para las determinaciones ARD en muestras de miel.*

Materiales	Equipos
• Tubos falcón • Tubos de ensayo • Vasos de precipitado • Matraz aforado de 1000 ml • Matraces aforados de 100 ml • Gradillas • Puntas para micropipetas (1 ml y 10 ml) • Espátula • Charola de acero inoxidable	• Espectrofotómetro UV-Vis modelo Jenway 6715. • Balanza analítica • Agitador Vórtex • Parrilla de calentamiento • Micropipetas (1 ml y 10 ml)

8.5.2 Reactivos y soluciones.

Solución de glucosa (g/L) para la curva patrón.

El reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) se utiliza para realizar la curva patrón de glucosa y para la determinación de los azúcares reductores directos (ARD) en las muestras de miel (*A. mellifera*). La preparación del reactivo DNS se puede apreciar en el ANEXO A de este documento.

8.5.3 Curva patrón de glucosa.

Para la realización de la curva patrón o curva de calibración se preparó una solución madre de glucosa con una concentración de 1 g en un litro (g/L), y a partir de esta solución se prepararon 10 diluciones con concentraciones de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 y 1.0 g/L y un blanco con agua destilada. De cada dilución (incluyendo el blanco) se tomó una alícuota de 0.5 ml y se depositó en un tubo de ensayo, el paso anterior se realizó por duplicado, obteniéndose un total de 22 tubos a los cuales se les añadió 1.5 ml del reactivo DNS (ácido 3, 5-dinitrosalicílico) y se mezclaron con la ayuda del Vórtex; luego se introdujeron a baño maría durante 15 min (agua en ebullición), posteriormente los tubos se retiraron y se dejaron enfriar a temperatura ambiente, para después adicionarles 8 ml de agua destilada; finalmente se mezclaron y se determinó la absorbancia en el espectrofotómetro en la longitud de onda de 550 nm. Con los datos de absorbancia obtenidos se determinó la curva de patrón de glucosa y la ecuación correspondiente que sirve como referencia para la cuantificación de los azúcares reductores directos (ARD) presentes en las muestras de miel.

Se realizó una curva patrón y/o curva de calibración por cada serie de determinaciones.

A continuación, se muestra un diagrama (Figura 14) en donde se resume el procedimiento para llevar a cabo la realización de la curva patrón de glucosa y/o curva de calibración.

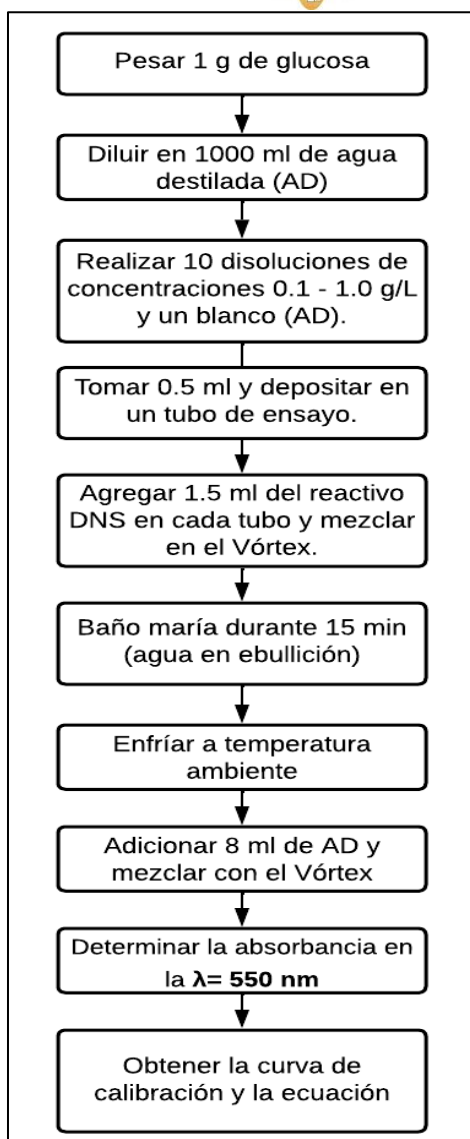


Figura 14. Diagrama del proceso de elaboración de la curva patrón de glucosa.

8.5.4 Procedimiento para la determinación de azúcares reductores directos (ARD) en muestras de miel.

El procedimiento consistió en pesar 0.1 g de muestra aproximadamente diluirlo en 100 ml de agua destilada, a partir de esa dilución se tomó una alícuota de 0.5 ml y se depositó en un tubo de ensayo (el procedimiento anterior se realiza por duplicado), luego se agregó 1.5 del reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) y se agitó en el Vórtex para posteriormente introducir los tubos en baño maría durante 15 min. (agua en ebullición); los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente y después se les agregó

8 ml de agua destilada, finalmente los tubos se agitaron en el Vórtex y la intensidad del color obtenido (absorbancia) se determina en el espectrofotómetro en la longitud de onda de 550 nm.



Figura 15. *Análisis para evaluar la concentración de ARD en las muestras de miel *A. mellifera*.*

8.5.5 Cuantificación de los azúcares reductores directos (ARD) en muestras de miel.

Los valores de absorbancia que se obtuvieron de cada muestra de miel analizada fueron sustituidos en la ecuación correspondiente que se obtuvo al realizar la curva patrón de glucosa, los valores anteriores se multiplicaron por el factor de dilución (100) para encontrar el resultado de concentración 1 y 2 de ARD (g/L); posteriormente se obtuvo un promedio de la concentración final de ARD (g/L), así como su desviación estándar y el resultado final se interpretó en porcentaje de peso sobre volumen (%(w/v)).

8.6.6 Análisis estadístico de las determinaciones ARD

Se realizaron dos análisis de varianza simple (ANOVAS) con el fin de observar similitudes y/o diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos. Los ANOVAS se efectuaron de la siguiente forma: uno de ellos se realizó para la concentración inicial de ARD (g/L) y el otro para la concentración final.

La figura que se muestra a continuación (Figura 16) contiene el procedimiento sintetizado que se siguió para encontrar el contenido de azúcares reductores (ARD) en las distintas muestras de miel (*Apis mellifera*) provenientes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia.

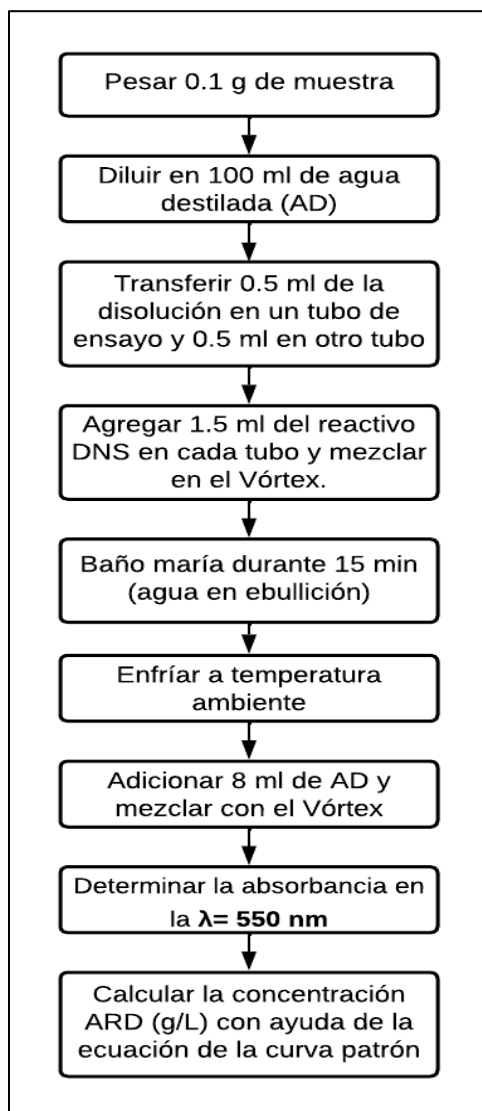


Figura 16. Diagrama del proceso de determinación ARD en muestras de miel.

IX. Resultados y discusión.

El presente capítulo contiene los resultados y la discusión de las distintas muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*) procedentes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia con relación a su contenido de hidroximetilfurfural (HMF) y su contenido en azúcares reductores directos (ARD) determinados a temperatura ambiente durante un tiempo de almacenamiento que se describen en los siguientes apartados.

9.1 Registro de la temperatura ambiente de almacenamiento de las muestras de miel.

La siguiente figura (Figura 16) muestra el comportamiento que siguió la temperatura ambiente de almacenamiento durante un periodo de ochenta días, en el cual las mediciones se realizaron diariamente en dos tiempos. El primer tiempo de medición se realizó durante la mañana (9:00 h) y el segundo tiempo por la tarde (17:00 h). El registro de temperaturas se inició a partir del 01/09/2022 y finalizó el 20/11/2022, exceptuando los días inhábiles. El registro de datos se encuentra presente en el ANEXO B de este documento.

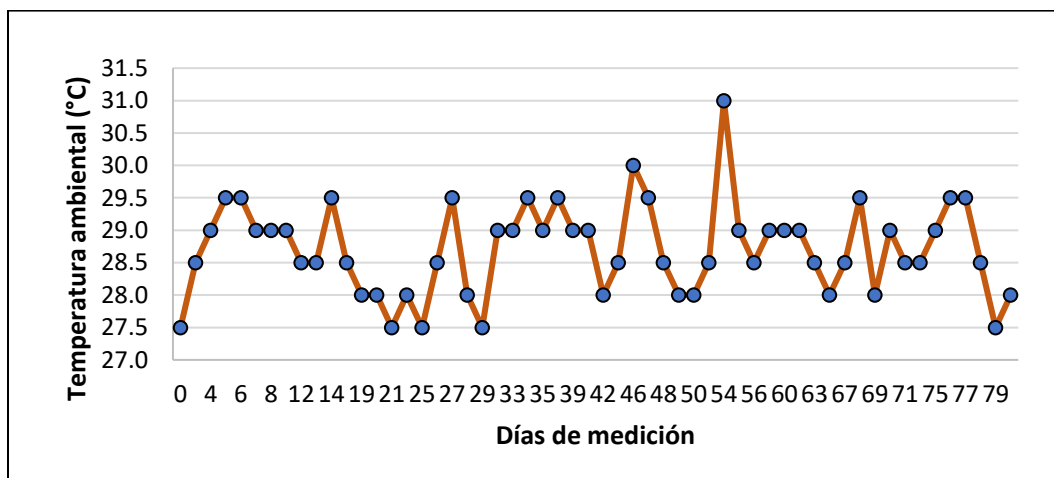


Figura 17. Comportamiento de la temperatura ambiente de almacenamiento determinado en un periodo de ochenta días.

De acuerdo con los datos reportados en la figura anterior (Figura 17) se observa que durante el periodo en el que se realizaron las mediciones la temperatura se mantuvo por encima de los 27.5 °C, siendo este el dato mínimo de temperatura que se registró durante el periodo de almacenamiento de las muestras de miel; mientras que el valor máximo fue de 31 °C y el valor promedio de temperatura ambiente se estableció en los 28.7 °C, lo cual nos indica que el registro de temperatura (°C) en el Estado de Yucatán es característico

de un clima tropical, esto indicado por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2022) y por algunos autores como Montaña et al. (2019) quienes mencionaron que las temperaturas superiores a los 24 °C son suficientes para considerar a un lugar con clima tropical.

9.2 Validación y estandarización del método espectrofotométrico (UV) de White mediante la prueba de precisión.

La tabla que se muestra a continuación (Tabla 6) contiene el registro de mediciones de la temperatura ambiente de almacenamiento la cual fue determinada durante tres días consecutivos (iniciando el 24/08/2022 y finalizando el 26/08/2022) para el análisis de la muestra No. 6 (TAH-BM) de la localidad Tahdziu y de floración Box Muk con la que se realizó una prueba de precisión con la finalidad de validar el método espectrofotométrico (UV).

Tabla 6. Registro de temperatura ambiente de la muestra No. 6 (TAH-BM). Prueba de precisión.

No. Muestra	Código	Localidad	Floración	Fecha de determinación	Temperatura inicial (°C)	Temperatura final (°C)	Promedio de temperaturas (°C)
6	TAH-BM	Tahdziu	Box Muk	24/08/2022	27.00	27.00	27.00
				25/08/2022	28.00	27.00	27.50
				26/08/2022	26.00	28.00	27.00
				Promedio general (°C)			27.17

De acuerdo con los datos registrados se observó que la temperatura ambiente se mantuvo alrededor de los 27 °C, generando un promedio de 27.17 °C en el cual la temperatura más alta se dio el día 25/08/2022 con una lectura de 27.5 °C y las temperaturas menores se dieron los días 24/08/2022 y 26/08/2022 con una lectura de 27 °C.

Las determinaciones para la prueba de precisión se realizaron por triplicado de acuerdo con la metodología “Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF)” disponible en el capítulo VIII “Materiales y métodos” descrito en este documento. Las mediciones de absorbancia se realizaron por triplicado para “Muestra y “Referencia” en cada longitud de onda (284 y 336 nm). El registro de valores de absorbancias (Tabla C-1), así como algunos de los cálculos requeridos (Tabla C-2)) se muestran en el ANEXO C de este documento.

Los valores de absorbancia que se obtuvieron en las longitudes de onda 284 y 336 nm de cada una de las muestras de miel analizadas fueron sustituidos en la “Ecuación 2. Hidroximetilfurfural” de este

documento (ver capítulo VIII “Materiales y métodos”). A continuación, se muestran los valores de concentración del contenido HMF (mg/100 g) que se obtuvieron durante la prueba realizada utilizando a la muestra No. 6 (TAH-BM) de la localidad Tahdziu y de floración Box Muk. Los valores se muestran a continuación (Tabla 7).

Tabla 7. Contenido de HMF (mg/100 g) de la muestra No. 6 (TAH-BM) determinado en tres días consecutivos para la prueba de precisión del método.

No. Muestra	Código	Fecha determinación	No. de Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)			Concentración promedio HMF (mg/100 g)	
					Medición 1	Medición 2	Medición 3		
6	TAH-BM	24/08/2022	1	2.07	2.75	2.75	2.71	2.94 ± 0.23 ^a	
			2	2.06	2.83	2.83	2.91		
			3	2.08	3.20	3.24	3.27		
		25/08/2022	1	2.04	3.16	3.19	3.16	3.05 ± 0.16 ^a	
			2	2.01	2.83	2.83	2.87		
			3	2.08	3.13	3.17	3.13		
		26/08/2022	1	2.04	2.86	2.90	2.94	2.98 ± 0.09 ^a	
			2	2.02	2.96	3.00	2.93		
			3	2.01	3.09	3.09	3.09		

De acuerdo con los datos observados en la Tabla 7; se puede apreciar que el contenido de HMF (mg/100 g) de la muestra No. 6 (TAH-BM) obtenido durante tres días consecutivos (24, 25 y 26 de agosto del 2022) se mantuvo alrededor de los 3.00 mg/100 g. El primer día de determinación (24/08/2022) el contenido de HMF fue de 2.94 ± 0.23 mg/100 g, en el segundo día (25/08/2022) el contenido de HMF incrementó obteniéndose un valor de 3.05 ± 0.16 mg/100g, mientras que en el tercer y último día (26/08/2022) el contenido de HMF disminuyó generándose un valor de 2.98 ± 0.09 mg/100 g.

Con base en el análisis de varianza simple (ANOVA con un 95 % de confianza) el cual mostró un Valor-P de 0.8066, siendo este un valor mayor a $\alpha=0.05$, lo cual significa que no existió una diferencia estadísticamente significativa entre las mediciones realizadas para la determinación del contenido de HMF en la muestra No. 6 (TAH-BM). El resultado obtenido en el ANOVA demostró que el método seleccionado para de la determinación de HMF en muestras de miel cuenta con una buena precisión, lo

anteriormente mencionado, se dedujo de acuerdo al concepto de precisión de Eurachem (2016) en donde nos dice que la precisión se mide con base a la cercanía que existe entre los resultados. El ANOVA (Figura C-1) se encuentra disponible en el ANEXO C.

El resultado anterior (ANOVA) indicó buena precisión entre las mediciones realizadas para la obtención del contenido de HMF en la muestra No. 6 (TAH-BM); con la realización de esta prueba de precisión del método se logró demostrar que el método espectrofotométrico (UV) de White (1979) es un método seguro y eficaz para la determinación del contenido de HMF en muestras de miel.

Para obtener una mayor seguridad de la eficacia del método, se evaluó la precisión con base a términos de repetibilidad; la cual fue medida en términos de desviación estándar típica (s) y del coeficiente de varianza (CV%). El resultado de dicha evaluación se muestra en la tabla que aparece a continuación (Tabla 8), los cálculos realizados (Figura C-2) se muestran en el ANEXO C.

Tabla 8. Resultados de la repetibilidad para la prueba de precisión del método.

No. Muestra	Código	Promedio de concentración HMF (mg/100 g)	Desviación estándar	Coeficiente de variación (%)
6	TAH-BM	2.99	0.05	1.80

La repetibilidad pretende obtener una variación mínima entre los resultados (mediciones realizadas) cuando el análisis se efectúa por un solo analista, en un solo laboratorio, utilizando los mismos equipos en tiempos cortos intervalo (Eurachem, 2016 y Zambrano y Ortega, 2015). Los resultados disponibles en la tabla anterior (Tabla 8) mostraron una desviación estándar de 0.05 y un coeficiente de variación de 1.80 %. El coeficiente de variación (CV%) también conocido como desviación estándar relativa (DER), se utiliza como un indicador para evaluar la repetibilidad y precisión de un método (Hurtado et al., 2017). Con base en algunos autores Hurtado et al. (2017) y Gomara et al. (2004) cuando el coeficiente de variación muestra resultados menores a 1 % la precisión es muy buena, cuando son menores a 2 % la precisión es aceptable, pero aquellos valores superiores al 2 % indican una precisión mínima. En esta prueba de precisión el CV fue de 1.80 % lo cual indica que la precisión está dentro del límite aceptable.

De acuerdo con los resultados obtenidos de repetibilidad (desviación estándar y coeficiente de variación), así como el resultado del ANOVA, se dedujo lo eficaz y preciso que puede ser el método espectrofotométrico de White (1979) para analizar HMF en muestras de miel; por lo que esto llevó a considerar seguro el uso del método para evaluar HMF en las muestras de miel (*A. mellifera*) que se utilizaron para esta prueba.

9.3 Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF).

La determinación del contenido de HMF se realizó por duplicado de acuerdo al procedimiento descrito en la sección “8.4 Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF)” disponible en el capítulo VIII “Materiales y métodos” de este documento. Las mediciones de absorbancia se realizaron por triplicado para “Muestra y “Referencia” en cada una de las longitudes de onda (284 y 336 nm).

El registro de valores de absorbancia (Tabla D-1 a Tabla D-6) de cada una de las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas durante sus distintas evaluaciones para esta prueba, se encuentran disponibles en el ANEXO D. La resta de valores de absorbancias “Muestra 284 – Referencia 284 y Muestra 336 – Referencia 336” (Tabla E-1 a Tabla E-6) son valores necesarios que se pueden apreciar en el ANEXO E.

Los valores de absorbancia obtenidos para las distintas muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas, fueron sustituidos en la “Ecuación 2. Hidroximetilfurfural” que se describe en el apartado “8.4 Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF)” del capítulo VIII “Materiales y métodos” para obtener los resultados de contenido HMF (mg/100 g).

Los resultados de concentración del contenido HMF (mg/100 g) de las distintas muestras de miel (*A. mellifera*) procedentes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia, que se obtuvieron en sus distintas determinaciones durante su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente se pueden encontrar en el ANEXO F (Tabla F-1 a Tabla F-6).

La tabla que se presenta a continuación (Tabla 9) muestra un resumen de los datos más relevantes en cuanto al contenido HMF para cada muestra de miel (*A. mellifera*) analizadas durante un determinado tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente (ocho semanas para las muestras provenientes de Yucatán y las comerciales de Colombia; y seis semanas para las muestras procedentes de Montes de María, Colombia). La tabla contiene los valores de concentración inicial HMF, así como los valores de

concentración final. Además, se puede apreciar el incremento de HMF que reportó cada muestra de miel desde su primera concentración de HMF hasta su resultado final; el incremento de HMF se reportó en mg/100 g y finalmente se expresó en términos de porcentaje (%).

Tabla 9. Resultados de la concentración inicial y final del contenido de HMF (mg/100 g) determinado en muestras de miel (*A. mellifera*).

No. Muestra	Código	Concentración inicial HMF (mg/100 g)			Concentración final HMF (mg/100 g)			Incremento de HMF (mg/100 g)	Incremento de HMF en porcentaje (%)
1	SIP-PT	1.82	±	0.12 ^e	2.36	±	0.02 ^g	0.54	30%*
2	ACEK-DZ	3.69	±	0.13 ^{gh}	4.32	±	0.05 ^l	0.63	17%*
3	ACEK-JA	3.47	±	0.11 ^f	4.24	±	0.03 ^k	0.77	22%*
4	PIHOL-TD	5.42	±	0.02 ⁱ	5.96	±	0.06 ^a	0.54	10%*
5	PIHOL-DJ	3.84	±	0.12 ^h	4.44	±	0.02 ^m	0.60	16%*
6	TAH-BM	3.55	±	0.14 ^{fg}	4.73	±	0.06 ⁿ	1.18	33%*
7	TAH-DZ	3.76	±	0.07 ^h	5.51	±	0.04 ^o	1.75	47%*
8	TAH-JA	3.74	±	0.03 ^{gh}	4.89	±	0.04 ^ñ	1.15	31%*
9	POTI-DZ	0.70	±	0.03 ^c	1.30	±	0.04 ^d	0.60	86%*
11	POTI-TX	0.47	±	0.06 ^b	0.96	±	0.02 ^c	0.49	104%*
12	PE-DZ	3.37	±	0.02 ^f	3.96	±	0.05 ^j	0.59	18%*
13	PE-DZJACHA	1.53	±	0.02 ^d	2.93	±	0.02 ⁱ	1.40	92%*
14	PE-CHAJA	0.45	±	0.03 ^b	1.38	±	0.03 ^e	0.93	207%*
15	PE-TAVESOL	3.77	±	0.02 ^h	3.99	±	0.03 ^j	0.22	6%*
C1 (16)	COL-CR	1.46	±	0.15 ^d	2.63	±	0.02 ^h	1.17	80%*
C2 (17)	COL-DP	6.67	±	0.02 ^j	7.16	±	0.03 ^r	0.49	7%*
A (18)	COL-CZ	0.12	±	0.01 ^a	0.29	±	0.02 ^a	0.17	142%**
B (19)	COL-SCE	0.56	±	0.05 ^{bc}	0.84	±	0.02 ^b	0.28	50%**
C (20)	COL-CAZIO	1.60	±	0.11 ^d	2.30	±	0.01 ^f	0.70	44%**
D (21)	COL-CZMB	3.90	±	0.04 ^h	5.81	±	0.04 ^p	1.91	49%**

Nota: Valores en una misma columna con una literal distinta (a, b, c...) son diferentes estadísticamente a $P < 0.05$ entre concentraciones de HMF (mg/100 g).

*: Incremento HMF (%) obtenido en ocho semanas de almacenamiento.

**: Incremento HMF (%) obtenido en seis semanas de almacenamiento.

Los valores de concentración inicial y concentración final de HMF de cada muestra de miel fueron graficados en la figura que aparece enseguida (Figura 18). La figura expresa los resultados de HMF en mg/100 g con su respectiva desviación estándar. En la gráfica también se indican los límites máximos permisibles de cuantificación para hidroximetilfurfural (límite general, límite para mieles de zonas tropicales y límite para mieles colombianas) propuestos por el Codex Alimentarius y por las normas mexicanas y colombianas (FAO/OMS, 2023; ICONTEC, 2007 y DOF, 2020).

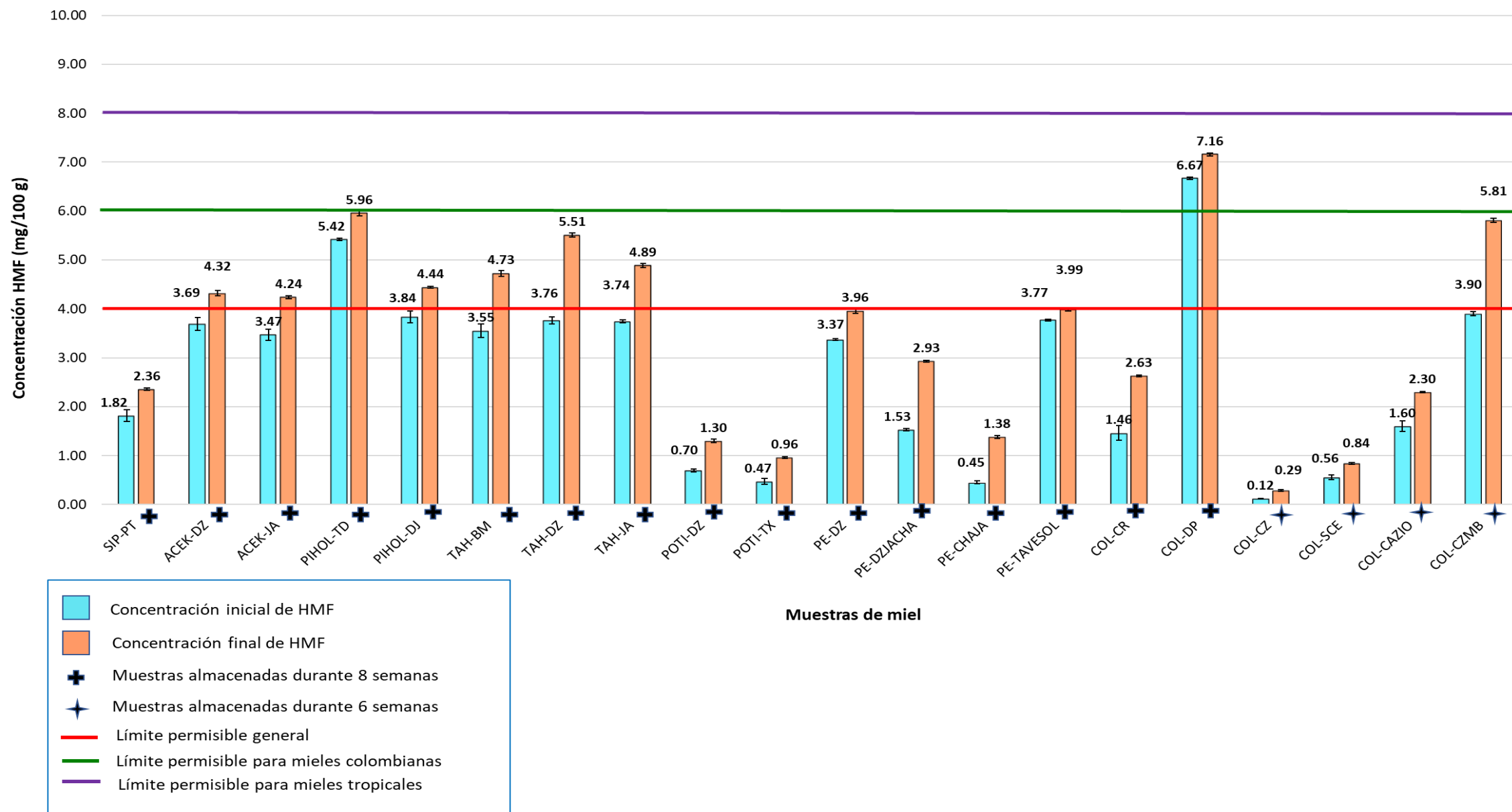


Figura 18. Concentración inicial y final del contenido HMF (mg/100 g) en las muestras de miel analizadas durante su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente.

Con base a los datos de la figura anterior (Figura 18) se observaron y dedujeron los resultados que se describen a continuación en cada uno de los siguientes apartados.

9.3.1 Concentración inicial de HMF en las muestras de miel analizadas.

Durante la primera evaluación de las muestras de miel a nivel general su concentración inicial HMF se mantuvo en un rango de 0.12 - 6.67 mg/100 g. Las muestras de Montes de María, Colombia, fueron las protagonistas, siendo la muestra COL-CZ (procedente de Baja-el salado y de floración Chico, Zarza) la que presentó la menor concentración con un valor HMF de 0.12 ± 0.01 mg/100 g; mientras que la muestra COL-DP (procedente de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del panal”) fue la que presentó la mayor concentración con valor HMF de 6.67 ± 0.02 mg/100g.

Por su parte, en las muestras de Yucatán, México, fue la muestra PE-CHAJA (procedente de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin) la que obtuvo la menor concentración con un valor HMF de 0.45 ± 0.03 mg/100 g; por su parte, la muestra con la mayor concentración fue la muestra PIHOL-TD (procedente de la localidad Pixyah, Holenchen y de floración Tahonal-Dzidzilche) que presentó un valor HMF de 5.42 ± 0.02 mg/100 g.

Con base en el ANOVA realizado para la concentración inicial HMF de las muestras de miel analizadas (Figura G-1 parte derecha; ver ANEXO G) se demostró con un 95 % de confianza, que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones HMF de las muestras de miel analizadas, puesto que el Valor-P fue de 0.0000 una cifra menor que el valor $\alpha=0.05$. De acuerdo con la tabla de múltiples rangos (Figura G-1 parte derecha; ver ANEXO G), algunas muestras de miel compartieron similitudes con otras muestras, y algunos de esos casos fueron los siguientes:

Las muestras PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin) con un valor HMF de 0.45 ± 0.03 mg/100 g, POTI-TX (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-xtabentun) con un valor HMF de 0.47 ± 0.06 mg/100 g fueron iguales estadísticamente. La muestra COL-SCE (de la localidad Baja-el salado y de floración Santa cruz, Emelina) con un valor HMF de 0.56 ± 0.05 mg/100 g comparte similitudes con las muestras anteriores y con la muestra POTI-DZ (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Dzidzilche) con un valor HMF de 0.70 ± 0.03 mg/100 g.

Las muestras COL-CR (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Celda Real”), PE-DZJACHA (de la localidad Peto y de floración Dzidzilche, Jabin-Chaká), y COL-CAZIO (de la localidad Media-Vereda Padula y de floración Campanilla, Zio) reportaron concentraciones iguales estadísticamente, con valores HMF de 1.46 ± 0.15 mg/100 g, 1.53 ± 0.02 mg/100 g y 1.60 ± 0.11 mg/100 g respectivamente.

Por otro lado, la muestra PE-DZ (de la localidad Peto y de floración Dzidzilche) con un valor HMF de 3.37 ± 0.02 mg/100 g, es igual estadísticamente a la muestra ACEK-JA (de la localidad Acanceh y de floración Jabin) con un valor HMF de 3.47 ± 0.11 mg/100 g. La muestra TAH-BM (de la localidad Tahdziu y de floración Box Muk) con un valor HMF de 3.55 ± 0.14 mg/100 g presentó similitudes con las muestras mencionadas anteriormente y con las muestras que se describen en el siguiente párrafo.

Las muestras ACEK-DZ (de la localidad Acanceh y de floración Dzidzilche) y TAH-JA (de la localidad Tahdziu y de floración Jabin) son iguales estadísticamente, presentando concentraciones HMF de 3.69 ± 0.13 mg/100 g y 3.74 ± 0.03 mg/100 g respectivamente.

Finalmente, las muestras TAH-DZ (de la localidad Tahdziu y de floración Dzidzilche), PE-TAVESOL (de la localidad Peto y de floración Tahonal, Vejucó, Solen AK.), PIHOL-DJ (de la localidad Pixyah, Holenchen y de floración Dzidzilche-Jabin) y COL-CZMB (de la localidad Alta-Canzona y de floración Campanilla, Zio, Mararratón, Bara de humo) son similares estadísticamente con valores HMF reportados de 3.76 ± 0.07 mg/100 g, 3.77 ± 0.02 mg/100 g, 3.84 ± 0.12 mg/100 g y 3.90 ± 0.04 mg/100 g respectivamente; y a su vez estas muestras comparten similitudes con las muestras mencionadas en el párrafo anterior.

9.3.2 Concentración final de HMF de las muestras de miel analizadas.

La concentración final de HMF en las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas durante esta prueba se mantuvieron en un rango de 0.29 - 7.16 mg/100 g, el resultado fue muy similar a los resultados de concentración HMF reportados por otros autores; como fue el caso de Archilia et al. (2021) quienes analizaron HMF en cincuenta muestras de miel *A. mellifera* de distinta floración (naranja-cítrico, eucalipto, café-arábica, hiedra de uva, membrillo, acacia y melaza) originarias de Brasil, las cuales fueron almacenadas en tubos falcón y conservadas en refrigeración hasta el momento de su análisis, el cual se realizó utilizando el método HPLC (cromatógrafo de líquidos) y obtuvieron valores HMF de 0.00 - 88.91 mg/kg (0.00 - 8.89 mg/100 g).

Entre los resultados reportados por Archilia et al. (2021) se encontraron valores de contenido HMF de 5.53, 6.11, 6.46 y 6.55 mg/kg (0.55, 0.61, 0.64 y 0.65 mg/100 g) muy parecidos al resultado que se obtuvo para la muestra COL-CZ (procedente de Baja-el salado y de floración Chico, Zarza) quien se volvió a postular como la muestra con la menor concentración a nivel general con un valor HMF de 0.29 ± 0.02 mg/100 g. Archilia et al. (2021) también encontró valores HMF de 8.09, 9.90 y 9.10 mg/kg (0.80, 0.99 y 0.91 mg/100 g) similares al de la muestra POTI-TX (proveniente de la localidad Popolnah, Tizimín y de

floración Tahonal-xtabentun) quien tomó el lugar como la miel con la menor concentración para el grupo de mieles provenientes del Estado de Yucatán, México con un valor HMF de 0.96 ± 0.02 mg/100 g .

Por su parte, la muestra PIHOL-TD (proveniente de la localidad Pixyah, Holenchen y de floración Tahonal-Dzidzilche) continuó tomando su lugar como la muestra con la mayor concentración del grupo de mieles originarias de Yucatán, México reportando un valor HMF de 5.96 ± 0.06 mg/100 g, el resultado obtenido fue parecido a uno reportado por De Castro et al. (2017) para una muestra de miel *A. mellifera* del municipio de Vitória da Conquista del Estado de Bahía, Brasil que con el método HPLC encontraron un valor HMF de 56.84 mg/kg (5.68 mg/100 g).

Continuando con las muestras de miel analizadas durante esta prueba, a nivel general la muestra COL-DP (procedente de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del panal”) continuó reportando la mayor concentración con un valor HMF de 7.16 ± 0.03 mg/100 g. Archilia et al. (2021) reportó valores parecidos a este, con valores HMF de 72.97, 73.72 y 75.10 mg/kg (7.29, 7.37 y 7.51 mg/100 g). Otro caso con concentraciones altas de HMF fue uno reportado por Uch-Samos et al. (2019) que al analizar HMF en una muestra de miel *A. mellifera* multifloral de Mérida, Yucatán obtuvo un valor HMF de 61 mg/kg (6.10 mg/100 g).

Según el ANOVA realizado para la concentración final HMF de las muestras de miel analizadas (Figura G-1 parte izquierda; ver ANEXO G) se demostró con un 95 % de confianza que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de las muestras analizadas, lo anteriormente mencionado se dedujo de acuerdo con el Valor-P que fue de 0.0000 el cual es una cifra de menor valor comparada con el valor de $\alpha = 0.05$. En la tabla de múltiples rangos (Figura G-1 parte izquierda; ver ANEXO G) se pudo apreciar que solo un par de muestras son similares estadísticamente, mientras que el resto no comparten similitudes entre sí. Ese par de muestras, fueron las muestras PE-DZ (procedente de la localidad Peto y de floración Dzidzilche) y PE-TAVESOL (procedente de la localidad Peto y de floración Tahonal, Vejucó, Solen AK.) con valores HMF de 3.96 ± 0.05 mg/100 g y 3.99 ± 0.03 mg/100 g respectivamente. Ambos resultados fueron parecidos al reportado por De Castro et al. (2017) para una miel *A. mellifera* L. con un valor HMF de 36.39 mg/kg (3.63 mg/100 g) y otros reportados por Archilia et al. (2021) con valores HMF de 35.80 y 36.54 mg/kg (3.58 y 3.65 mg/100 g) para *A. mellifera*.

Con respecto a la Figura 18 se observó que el 45 % de las veinte muestras analizadas superaron el límite máximo permisible de cuantificación HMF para mieles en general (4 mg/100 g) propuesto por el Codex

Alimentarius y la legislación mexicana. Siendo siete muestras de Yucatán, México y dos muestras de Montes de María Colombia las que superaron este límite.

Las muestras de Yucatán, México fueron las muestras ACEK-DZ (de floración Dzidzilche) con un valor HMF de 4.32 ± 0.05 mg/100 g y ACEK-JA (de floración Jabin) con un valor HMF de 4.24 ± 0.03 mg/100 g, ambas de la localidad Acanceh; las muestras provenientes de la localidad Pixyah, Holenchen: PIHOL-TD (de floración Tahonal-Dzidzilche) con un valor HMF de 5.96 ± 0.06 mg/100 g y PIHOL-DJ (de floración Dzidzilche-Jabin) con un valor HMF de 4.44 ± 0.02 mg/100 g; y finalmente, las muestras originarias de la localidad Tahdziu: TAH-BM (de floración Box Muk), TAH-DZ (de floración Dzidzilche) y TAH-JA (de floración Jabin) con valores HMF de 4.73 ± 0.06 mg/100 g, 5.51 ± 0.04 mg/100 g, y 4.89 ± 0.04 mg/100 g respectivamente. Las muestras mencionadas anteriormente superaron el límite general máximo permisible (4 mg/100 g) después de ocho semanas de almacenamiento, a excepción de la muestra PIHOL-TD (de la localidad Pixyah, Holenchen y de floración Tahonal-Dzidzilche) la cuál desde el inicio de la prueba superó el límite máximo permisible (4 mg/100 g) con un valor HMF de 5.42 ± 0.02 mg/100 g.

Para las muestras de Montes de María, Colombia fueron las muestras COL-DP (procedente de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del panal”) con un valor HMF de 7.16 ± 0.03 mg/100 g después de ocho semanas de almacenamiento, aunque desde el inicio de la prueba superó el límite con un valor HMF de 6.67 ± 0.02 mg/100g; y la muestra COL-CZMB (procedente de Alta-Canzona y de floración Campanilla, Zio, Mararraton y Bara de humo) con un valor HMF de 5.81 ± 0.04 mg/100 g obtenido luego de seis semanas de almacenamiento.

Sin embargo, a pesar de que las muestras de miel descritas anteriormente hayan superado el límite general de cuantificación aún son consideradas como mieles de calidad tomando en cuenta que existe un límite máximo permisible para mieles de zonas tropicales (8 mg/100 g) establecido por el Codex Alimentarius y por la legislación mexicana.

De acuerdo con lo anterior, las mieles procedentes de Yucatán, México pueden ser comercializadas a nivel nacional e internacional sin ningún problema puesto que cumplen con el estándar permitido de contenido HMF. Por su parte, Colombia ha establecido su propio límite (6 mg/100 g), por lo que a nivel nacional la muestra COL-DP (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del panal”) fue la única que superó este límite con un valor HMF de 7.16 ± 0.03 mg/100 g; pero, a nivel internacional todas las muestras procedentes de Colombia pueden ser comercializadas sin ningún problema en cuanto a su contenido de HMF.

Con respecto a las muestras que superaron el límite permisible para mieles en general (4 mg/100 g), existen diversos factores que influyen en la formación y crecimiento de HMF de los cuales depende si el contenido de HMF es alto o es bajo. Dichos factores se describen a continuación.

Díaz et al. (2021) indicaron con base en otros estudios que es muy probable que las altas concentraciones de HMF en las mieles se dan principalmente en aquellos países pertenecientes a zonas cálidas. Algunos ejemplos de lo anteriormente mencionado se puede comprobar en un estudio realizado por Mohtar et al. (2011) quienes analizaron HMF mediante el método de Fiehe modificado con base en el CEDIA de Argentina en diez muestras de miel de abeja comerciales de Venezuela y reportaron que el 60 % de las mieles superaron el límite máximo permisible para mieles en general (40 mg/kg) y por Saraiva et al. (2013) en treinta muestras de miel *A. mellifera* de distintas marcas comerciales de Brasil recolectadas en 2008 a las que se les determinó el HMF mediante el método espectrofotométrico de White (1979), reportando que el 46.6 % de las muestras analizadas superaron el límite establecido por la ley brasileña (60 mg/kg) cuyos valores de HMF fueron de 46.4 - 103.5 mg/kg (4.64 - 10.35 mg/100 g) rango parecido al reportado en esta prueba (0.29 - 7.16 mg/100 g)

Aunque, por otro lado, existen casos de estudios realizados en lugares cálidos en donde las concentraciones de HMF son bajas, como en el caso de Velásquez y Goetschel (2019) quienes analizaron HMF mediante la metodología de la AOAC 980.23 en veintisiete muestras de miel comerciales *A. mellifera* en Ecuador obteniendo valores HMF de 3.01 - 18.64 mg/kg (0.30 - 1.86 mg/100 g). Otro caso similar fue el de Villar et al. (2015) quién analizó HMF en una muestra de miel de abeja comercial proveniente de España recién abierta utilizando el método espectrofotométrico de White (1979) y obtuvieron un contenido de HMF de 2.06 mg/100 g. En ambos estudios (Velásquez y Goetschel, 2019 y Villar et al., 2015) se demostró que existen ocasiones en las que una muestra comercial de miel puede obtener concentraciones bajas de HMF como en el caso de la muestra COL-CR (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Celda real”) la cual reportó una concentración HMF de 2.63 ± 0.02 mg/100 g.

El sobrecalentamiento y los tiempos prolongados de almacenamiento son factores que influyen en el crecimiento de HMF en mieles (Mohtar et al., 2011, Villar et al., 2015 y Velásquez y Goetschel, 2019). Villar et al. (2015) utilizaron una muestra de miel de abeja comercial de España, la cual fue sometida a distintos tratamientos (temperatura ambiente en 0 horas, 40 °C en 4 horas, 60° C en 4 horas y 60° C en 24 horas) en dónde reportaron una concentración HMF de 6.03 mg/100 g para la muestra sometida a 60 °C durante 24 horas superior al límite permisible general (4 mg/100 g), con este resultado los autores reportaron que el HMF aumenta de manera progresiva cuando la miel es sometida a temperaturas altas

(60 °C) y se ve beneficiado por los tiempos prolongados de almacenamiento. Según lo mencionado anteriormente, es muy probable que la muestra COL-DP (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del panal”) haya sido expuesta a tratamiento térmico con temperaturas elevadas durante el momento de su extracción y debido a eso y al tiempo de almacenamiento es que presentó un valor alto de HMF (7.16 ± 0.03 mg/100 g).

Las condiciones de almacenamiento (tiempo y temperatura) es otro de los factores que influyen en la formación de HMF en las mieles (Mohtar et al., 2011). Un claro ejemplo de lo anteriormente mencionado, fue un estudio realizado por Chávez (2010) quién analizó HMF utilizando el método espectrofotométrico de Winkler (1955) en miel de abejas *A. mellifera* de distinta fuente floral (mangle, campanita y cítricos) del Estado de Veracruz, México, las cuales fueron almacenadas en frascos de vidrio a 25, 30 y 40 °C durante un periodo de dos meses. Los resultados reportaron valores HMF de 11.474, 15.198 y 4.736 mg/kg (1.147 , 1.519 y 0.473 mg/100 g) a 25° C para campanita, cítricos y mangle, respectivamente; valores de HMF de 11.580, 17.017 y 8.940 mg/kg (1.158 , 1.701 y 0.894 mg/100 g) a 30° C con respecto a campanita, cítricos y mangle; y finalmente a 40° C fueron de 70.868, 66.087 y 43.104 mg/kg (7.086 , 6.608 y 4.310 mg/100 g), para campanita, cítricos y mangle, correlativamente. Con respecto a los resultados encontrados por Chávez (2010), a 25° C fueron valores muy parecidos a los reportados en esta prueba, como en el caso de las muestras POTI-DZ (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Dzidzilche) que presentó una concentración HMF de 1.30 ± 0.04 mg/100 g y PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin) que reportó un valor HMF de 1.38 ± 0.03 mg/100 g; los reportados a 30° C fueron similares a los de las muestras COL-SCE (de Baja- el salado y de Santa cruz, Emelina) y POTI-TX (de Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-xtabentun) que reportaron valores HMF de 0.84 ± 0.02 y 0.96 ± 0.02 mg/100 g, respectivamente; y a 40° C fueron valores muy parecidos a los de las algunas muestras obtenidos en esta prueba, como las muestras de las localidad Acanceh, ACEK-DZ (de floración Dzidzilche) y ACEK-JA (de floración Jabin) con valores HMF de 4.32 ± 0.05 y 4.24 ± 0.03 mg/100 g, respectivamente; las mieles de la comunidad Pixyah, Holenchen, PIHOL-TD (de floración Tahonal-Dzidzilche) y PIHOL-DJ (de floración Dzidzilche-Jabin) con contenidos HMF de 5.96 ± 0.06 y 4.44 ± 0.02 mg/100 g, respectivamente; y las muestras de la localidad Tahdziu, TAH-BM (de floración Box Muk), TAH-DZ (de floración Dzidzilche) y TAH-JA (de floración Jabin) con concentraciones HMF de 4.73 ± 0.06 , 5.51 ± 0.04 y 4.89 ± 0.04 mg/100 g, respectivamente.

Con respecto al párrafo anterior es importante indicar que aunque las muestras de esta prueba y las reportadas por Chávez (2010) hayan tenido el mismo tiempo de almacenamiento (dos meses), existe una diferencia entre la temperatura de almacenamiento, puesto que en la prueba de Chávez (2010) se manejó a 40 °C, mientras que en esta prueba la temperatura fue ambiental (28.7 °C), de acuerdo con Chávez (2010) los efectos significativos de crecimiento HMF comienzan cuando las muestras se someten a 40 °C de almacenamiento y no cuando se mantienen a temperatura ambiente (30 °C).

De acuerdo con lo concluido por Chávez (2010) y en aquellas mieles que reportaron concentraciones altas de HMF a pesar de su almacenamiento a temperatura ambiente (28.7 °C), existe la probabilidad de que el contenido alto de HMF se debe a una incorrecta manipulación de las mieles durante el momento de su cosecha y/o elaboración (Villar et al., 2015 y Martínez, 2020). Según Martínez (2020) en su estudio realizado en muestras de miel *A. mellifera* (*Apidae*) del Valle de Durango, México recolectadas en 2018 y almacenadas en frascos de vidrio a 4 °C hasta el momento de su determinación mediante el método HPLC. reportó concentraciones HMF 30.58, 40.5 y 70.39 mg/kg (3.05, 4.05 y 7.03 mg/100 g) muy parecidas a la de la muestra COL-CZMB (de Alta-Canzona y de la floración Campanilla, Zio, Mararraton, Bara de humo) que presentó un valor HMF de 5.81 ± 0.04 mg/100 g a pesar de solo haber estado almacenada durante seis semanas, lo cual puede indicar que esta muestra de miel pudo haber tenido un mal manejo durante su cosecha.

La adulteración es otro posible caso de concentraciones altas de HMF (Mohtar et al., 2011), un ejemplo de esto fue un estudio realizado por Marques et al. (2020) quienes utilizaron mieles frescas y mieles añejas de *A. mellifera* con las cuales realizaron mezclas de distintas proporciones y les determinaron HMF según la metodología AOAC en un inicio de la prueba y después de haber sido almacenadas en condiciones de la ciudad de Teresina, Brasil en un periodo de 60 días de almacenamiento, el tratamiento con menor cantidad de miel añeja al finalizar la prueba reportó un valor HMF de 97.73 mg/kg (9.77 mg/100 g) valor un poco parecido al obtenido para la muestra COL-DP (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del Panal”) con un valor HMF de 7.16 ± 0.03 mg/100 g, por lo que puede ser posible que la muestra COL-DP haya sido adulterado con una pequeña cantidad de otra miel envejecida, lo mismo pudo haber ocurrido para aquellas mieles que de igual manera mostraron altos contenidos de HMF.

Algunos autores consideran que el HMF se relaciona con la edad de la miel, por lo que una miel recién cosechada reporta concentraciones bajas de HMF, mientras que una miel envejecida presenta un contenido alto de HMF (Mohtar et al., 2011, Villar et al., 2015 y Marques et al., 2020). Esta teoría se pudo comprobar con las mieles analizadas en esta prueba, en dónde la miel más joven COL-CZ (de la localidad Baja-el

salado y floración Chico, Zarza) cosechada el 22 de agosto del 2022 reportó la menor concentración de todas las muestras con un valor HMF de 0.29 ± 0.02 mg/100 g, mientras que la muestra COL-CZMB (de la localidad Alta-Canzona y de la floración Campanilla, Zio, Mararraton, Bara de humo) siendo una muestra de las más añejas de todas, puesto que fue cosechada el 20 de diciembre del 2021 reportó una de las concentraciones más altas de HMF con un valor de 5.81 ± 0.04 mg/100 g. Lo mismo se reflejó para las muestras procedentes de Yucatán, en dónde la muestra más joven PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin) cosechada entre el 4 y 5 de mayo del 2022 reportó una de las concentraciones más bajas con un valor HMF de 1.38 ± 0.03 mg/100 g, y por su parte la muestra TAH-BM (de la localidad Tahdziu y de floración Box Muk) mostró una de las concentraciones más altas de HMF con un valor de 4.73 ± 0.06 mg/100 g siendo una de las muestras más añejas por ser recolectada el 15 de febrero del 2022.

Por otro lado, el HMF también depende de la especie de abeja, esto fue demostrado por Lemos et al. (2017) quienes determinaron HMF según la metodología de Instituto Adolfo Lutz (2008) en diecisiete mieles de distinta especie de abeja (*Scaptotrigona* sp., *M. fasciculata*, *M. flavolineata* y *A. mellifera*) de la región amazónica, recolectadas entre 2012 y 2013 después de almacenarlas a 4° C en botes de plástico hasta el momento de su análisis, presentando valores promedios de HMF de 24.71, 17.81 y 34.62 mg/kg para *Scaptotrigona* sp., *M. fasciculata* y *M. flavolineata*, respectivamente; mientras que *A. mellifera* fue la especie que mostró las concentraciones HMF más altas, con valores HMF en un rango de 0.60 - 173.15 mg/kg (0.06 - 17.31 mg/100 g), rango en dónde entra el obtenido en esta prueba (0.29 - 7.16 mg/100 g).

Otro caso similar al anterior, fue el realizado por De Castro et al. (2017) en dieciocho muestras de miel de distintas especies de abejas (*A. mellifera* L., *M. scutellaris* y *T. angustula*) procedentes de Brasil y cosechadas entre 2014 y 2016, a las que les determinaron HMF por medio de HPLC, obteniendo valores HMF de 129.65 y 144.32 mg/kg para *M. scutellaris* y un valor HMF de 103.13 mg/kg para *T. angustula*, por su parte *A. mellifera* L. reportó concentraciones en un rango más extenso con valores HMF de 2.47 - 1238.2 mg/kg (0.24 - 123.82 mg/100 g), un rango en el que también entran las concentraciones HMF de esta prueba (0.29 - 7.16 mg/100 g).

El contenido de HMF también puede depender del tipo de floración (Da Silva et al., 2015 y Shapla et al., 2018). Esto fue demostrado en Yucatán por Moguel et al. (2005) quienes analizaron HMF siguiendo las metodologías de la CEM en mieles de tahonal, dzidzilché y árboles-enredaderas recolectadas en 2001, obteniendo el valor HMF más alto para la miel dzidzilché con un valor HMF de 17.9 mg/kg y el menor para la miel de tahonal con un valor HMF de 4.1 mg/kg. Con base en el estudio de Moguel et al. (2005) se demostró que las mieles de floración dzidzilché pueden reportar concentraciones altas de HMF mientras

que las de tahonal pueden reportar concentraciones bajas de HMF, y esto se pudo comprobar en las mieles reportadas por este estudio puesto que la mayoría de muestras de floración Dzidzilche reportaron concentraciones HMF que superaron el límite permisible general (4 mg/100 g) (Ver Figura 19.) mientras que con las de Tahonal no se pudo comprobar esta teoría puesto que ninguna de las muestras analizadas en esta prueba contienen únicamente Tahonal, aquellas que lo contienen también cuentan con otra fuente floral (Ver Tabla 3.)

Otro posible caso de variación de HMF puede deberse al tipo de método utilizado para evaluar HMF como en el caso de Da Silva et al. (2020) quienes analizaron HMF utilizando un sistema de electroforesis capilar equipado con detector de diodos en ocho mieles de Brasil *A. mellifera* después de 450 días de almacenamiento en botellas de polietileno a 20 ± 4 °C reportaron resultados bajos de concentración HMF con un valor de 0.31 mg/kg para todas las mieles, el cual fue un resultado muy bajo con base a los días en que se almacenaron las mieles. Sin embargo, los únicos métodos validados para la determinación de HMF en mieles es el HPLC y los dos espectrofotométricos, el de Winkler (1955) y el de White (1979), los cuales son sugeridos por distintas organizaciones como el Codex Alimentarius, la AOAC (2023) y la IHC (2009).

El tipo de envase es otro de los factores que, aunque no parezca influye en la concentración de HMF, por lo que algunos autores recomiendan almacenar las mieles en recipientes de vidrio en temperaturas máximas de 20 °C y con una humedad relativa no superior a 60 % (Martínez, 2013). Por lo que, de acuerdo con lo anteriormente mencionado, es muy posible que las mieles reportadas en este estudio hayan obtenido concentraciones superiores al límite general (4 mg/100 g) debido a que la temperatura de almacenamiento (28.7 °C) fue superior a los 20 °C o también pudo influir la humedad relativa. Sin embargo, ninguna de las muestras superó el límite para mieles tropicales (8 mg/100 g) lo cual se le puede atribuir a que las mieles fueron almacenadas en frascos de vidrio.

De acuerdo con todo lo descrito en los párrafos anteriores, se puede comprobar que son diversos los factores que influyen en el contenido de HMF en las mieles, por lo que, no se lo podría atribuir a un solo factor la aparición de HMF en una miel, sino más bien a la combinación de distintos factores que alteran la composición de la miel generando la formación de sustancias indeseadas como el hidroximetilfurfural (HMF).

9.3.3 Incremento (%) de HMF en las muestras de miel analizadas durante su almacenamiento a temperatura ambiente.

La figura que aparece a continuación (Figura 19) contiene el incremento (%) de HMF que presentó cada muestra de miel durante su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente. El incremento (%) fue calculado desde el inicio de la prueba (concentración inicial de HMF) hasta el momento de la última determinación (concentración final de HMF), por lo que, algunas muestras obtuvieron el incremento (%) en ocho semanas de almacenamiento, mientras que otras en seis semanas. La Figura 19 muestra la simbología para cada grupo de muestras de miel.

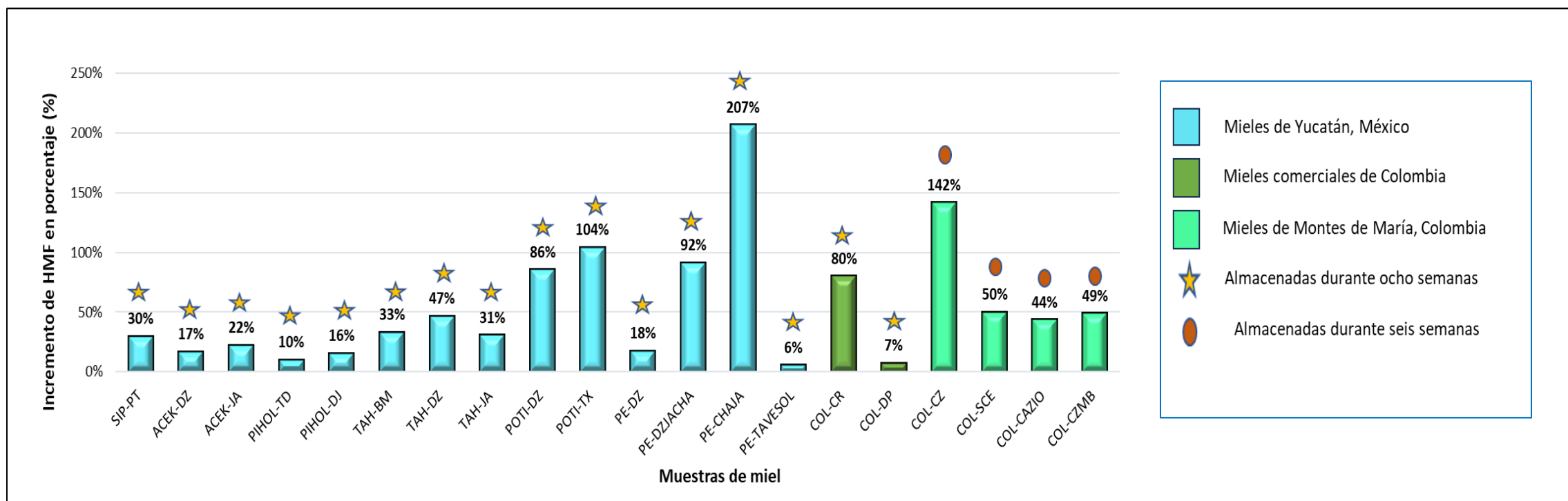


Figura 19. Incremento (%) de HMF en cada una de las muestras de miel analizadas.

De acuerdo con la Figura 19 se observó que a nivel general las muestras procedentes de Yucatán, México representaron las muestras con el incremento (%) más alto y más bajo; siendo la muestra PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin) la que mostró el valor más alto al reportar un incremento de 207 % en sus ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente (28.7 °C) y la muestra PE-TAVESOL (de la localidad Peto y de floración Tahonal, Vejucó, Solen AK.) la que presentó el valor más bajo con un incremento del 6 % en las mismas condiciones de almacenamiento (temperatura y tiempo).

En cuanto a las muestras provenientes de Colombia, fue la muestra COL-CZ (de la localidad Baja-el salado y de floración Chico, Zarza) la que mostró el valor más alto al representar un incremento de 142 % en sus seis semanas de almacenamiento a temperatura ambiente (28.7 °C) y la muestra COL-DP (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del panal”) la que reportó el valor más bajo con un incremento del 7 % en sus ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente (28.7 °C).

Los incrementos (%) reportados en esta prueba (Figura 19) fueron parecidos a los reportados por otros autores en condiciones similares como Chávez (2010) en mieles *A. mellifera* obteniendo valores iniciales de HMF de 6.227, 7.868 y 1.974 mg/kg para miel de campanita, cítricos y mangle, respectivamente y resultados finales de concentración HMF de 11.580, 17.017 y 8.940 mg/kg, respectivamente, después de dos meses de almacenamiento a 30 °C; en dónde según lo reportado obtuvieron incrementos de 85.96 %, 116.28 % y 352.88 % para campanita, cítricos y mangle, correspondientemente.

Según Marques et al. (2020) en mezclas de mieles *A. mellifera* reportaron concentraciones iniciales HMF de 19.0, 71.77, 93.90, 102.93, 115.0 y 141.13 mg/kg y después de 60 días de almacenamiento en condiciones de la ciudad de Teresina, Brasil mostraron concentraciones finales HMF de 32.0, 97.33, 113.10, 146.23, 159.13 y 183.02 mg/kg, correspondientemente, presentando incrementos de 68.42 %, 35.61 %, 20.44 %, 42.06 %, 38.37 % y 29.68 %, correlativamente.

9.3.4 Comportamiento del contenido HMF en las muestras de miel (*A. mellifera*) almacenadas.

La figura que aparece a continuación (Figura 20) presenta el comportamiento del contenido de HMF que obtuvo cada muestra de miel durante sus distintas semanas de almacenamiento a temperatura ambiente. En la figura (Figura 20) se puede observar en el eje X, el tiempo en semanas en que se evaluó cada una de las muestras de miel; mientras que en el eje Y se encuentran los valores de concentración HMF expresados en mg/100 g.

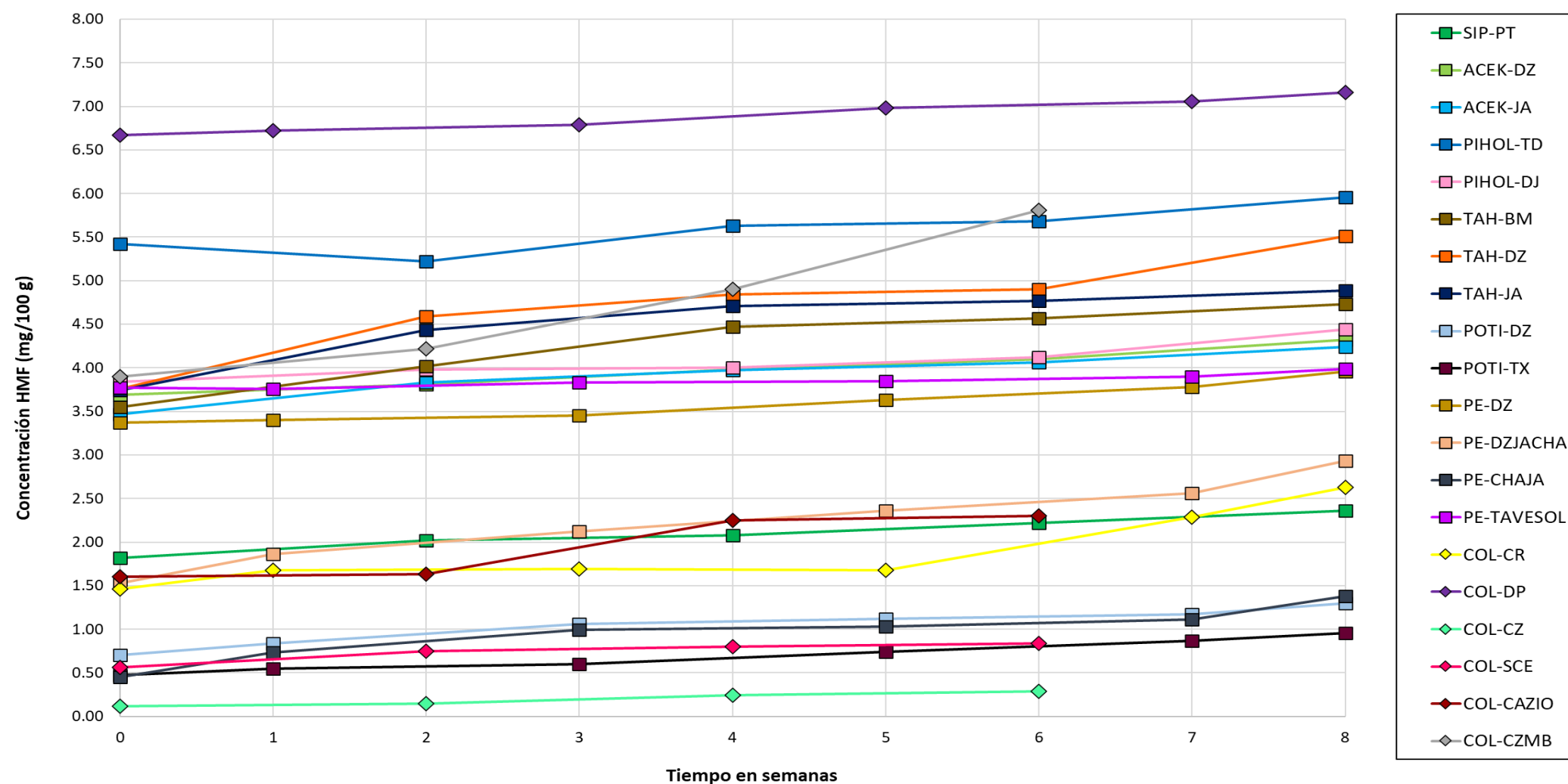


Figura 20. Comportamiento del contenido de HMF en cada una de las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas durante su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente.

Con base en la figura anterior (Figura 20) se observó que la mayoría de las muestras analizadas se posicionaron en un rango que va de 3.00 - 5.00 mg/100 g desde el inicio de la prueba y manteniéndose en ese rango hasta el final de la evaluación, representando un 40 % del total de las muestras analizadas. Las muestras de miel que representaron ese 40 % fueron algunas muestras de la localidad Peto PE-DZ (de floración Dzidzilche) y PE-TAVESOL (de floración Tahonal, Vejucó, Solen AK.); las muestras de la localidad Tahdziu TAH-BM (de floración Box Muk), TAH-DZ (de floración Dzidzilche) y TAH-JA (de floración Jabin); las muestras de la localidad Acanceh ACEK-DZ (de floración Dzidzilche) y ACEK-JA (de floración Jabin) y finalmente la muestra PIHOL-DJ (de floración Dzidzilche-Jabin) originaria de la localidad Pixyah, Holenchen.

Un 20 % del total de las muestras se mantuvieron entre 1.40 - 3.00 mg/100 g, siendo estas muestras PE-DZJACHA (de la localidad Peto y de floración Dzidzilche, Jabin-Chaká), SIP-PT (de la localidad Sierra papacal y de floración Palo de tiente), COL-CAZIO (de la localidad Media-Vereda Padula y de floración Campanilla, Zio) y COL-CR (de San Jacinto Bolívar y de la marca “Celda real”).

Otro 20 % del total, se posicionaron entre 0.40 - 1.40 mg/100 g desde el inicio de la prueba hasta el final de esta; las muestras fueron PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin), POTI-DZ (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Dzidzilche), POTI-TX (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-xtabentun) y COL-SCE (de la localidad Baja-el salado y de floración Santa cruz, Emelina).

El 20 % restante del total de las muestras se mantuvieron en posiciones distintas al resto de los grupos descritos anteriormente. La muestra COL-DP (procedente de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del panal”) se mantuvo por encima de las demás muestras durante sus ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente; mientras que la muestra COL-CZ (de la localidad Baja-el salado y de floración Chico, Zarza) se mantuvo por debajo del resto de las muestras durante sus seis semanas de almacenamiento a temperatura ambiente; conforme a lo observado en la Figura 21 existe una probabilidad que la muestra mencionada anteriormente hubiese continuado por debajo de las demás muestras en la semana 8 de almacenamiento.

A nivel general se observó que el comportamiento de contenido HMF se incrementaba conforme aumentaba el tiempo de almacenamiento. Algunos autores establecen que el tiempo de almacenamiento es un factor que influye en el crecimiento de HMF en las mieles (Da Silva et al., 2015 y Shapla et al., 2018) puesto que este compuesto aumenta de manera progresiva conforme pasa el tiempo de almacenamiento (Villar et al., 2015 y Marques et al., 2020).

Para comprender de mejor manera el comportamiento de cada muestra de miel analizada se realizó un ANOVA de las concentraciones HMF (mg/100 g) obtenidas durante las distintas determinaciones de cada una de las muestras de miel. Los ANOVAS realizados para cada una de las muestras, así como sus respectivas tablas de múltiples rangos (Figura H-1) se encuentran disponibles en el ANEXO H. De acuerdo con los resultados reportados por los ANOVAS se describió lo siguiente:

Todas las muestras evaluadas reportaron resultados de Valor-P menores al valor $\alpha = 0.05$, con lo cual se dedujo que todas las muestras presentaron una diferencia estadísticamente significativa entre sus concentraciones de HMF (mg/100 g) obtenidas durante el tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente.

La muestra SIP-PT (proveniente de la localidad Sierra papacal y de floración Palo de tiente) presentó un Valor-P de 0.0042. Según su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) la diferencia significativa de concentración HMF se dio de la semana 0 (1.82 ± 0.12 mg/100 g) a la semana 2 (2.02 ± 0.02 mg/100 g) de tiempo de almacenamiento. El valor de concentración HMF obtenido en la semana 2 de almacenamiento compartió similitud con el obtenido en la semana 4 de almacenamiento (2.08 ± 0.04 mg/100 g); el de la semana 4 compartió similitud con el de la semana 6 de almacenamiento (2.22 ± 0.03 mg/100 g), pero este ya no compartió con el resto a excepción del obtenido en la semana 8 de almacenamiento (2.36 ± 0.02 mg/100 g).

La muestra ACEK-DZ (de la localidad Acanceh y de floración Dzidzilche) obtuvo un Valor-P de 0.0090. En su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) se mostró un mismo patrón de comportamiento en donde la concentración HMF de la semana 0 de almacenamiento (3.69 ± 0.13 mg/100 g) compartió similitud con el de la semana 2 de almacenamiento (3.81 ± 0.06 mg/100 g); el de la semana 2 compartió similitud con el de la semana 4 de almacenamiento (3.98 ± 0.03 mg/100 g), pero la semana 2 fue estadísticamente diferente a las obtenidas en las siguientes semanas (6 y 8); el de la semana 4 compartió similitud con el de la semana 6 de almacenamiento (4.10 ± 0.10 y 4.32 mg/100 g), pero ya no compartió similitud con el de la semana final (8); finalmente el de la semana 6 compartió similitud con el de la semana 8 de almacenamiento (4.32 ± 0.05 mg/100 g).

En la muestra ACEK-JA (de la localidad Acanceh y de floración Jabin) se reportó un Valor-P de 0.032. La tabla de múltiples rangos (Figura H-1) mostró que el cambio significativo de HMF se dio de la semana 0 de almacenamiento (3.47 ± 0.11 mg/100 g) a la semana 2 de almacenamiento (3.83 ± 0.12 mg/100 g); por su parte, la concentración obtenida en la semana 2 fue estadísticamente igual a la que se obtuvo en la semana 4 de almacenamiento (3.97 ± 0.04 mg/100 g) y ambas compartieron similitudes con la concentración obtenida en la semana 6 (4.06 ± 0.02 mg/100 g), finalmente la concentración HMF obtenida en la semana 8 de almacenamiento (4.24 ± 0.03 mg/100 g) compartió similitud con la anterior pero fue estadísticamente diferente a las obtenidas en las semanas anteriores (0, 2 y 4).

El Valor-P para la muestra PIHOL-TD (de la localidad Pixyah, Holenchen y de floración Tahonal-Dzidzilche) fue de 0.0040. En su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) se observó que en esta muestra sucedió un caso particular puesto que la concentración HMF obtenida en la semana 0 de almacenamiento (5.42 ± 0.02 mg/100 g) fue mayor a la obtenida en la semana 2 de almacenamiento (5.22 ± 0.04 mg/100 g) ambas muestras compartieron similitud estadística, el contenido HMF obtenido en la semana 4 de almacenamiento (5.63 ± 0.09 mg/100 g) compartió similitud con el de la semana 0 y con el de la semana 6 de almacenamiento (5.68 ± 0.13 mg/100 g), pero no con el de la semana 2; la diferencia significativa se dio de la semana 6 a la semana 8 de almacenamiento (5.96 ± 0.06 mg/100 g).

Para la muestra PIHOL-DJ (de la localidad Pixyah, Holenchen y de floración Dzidzilche-Jabin) el Valor-P fue de 0.0043. En su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) se mostró que la concentración HMF obtenida en la semana 0 de almacenamiento (3.84 ± 0.12 mg/100 g) compartió similitud con el de la semana 2 (3.98 ± 0.03 mg/100 g) y el de la semana 4 (4.00 ± 0.05 mg/100 g); el resultado HMF obtenido en la semana 6 de almacenamiento (4.12 ± 0.06 mg/100 g) compartió similitud con los de las semanas 2 y 4 y fue estadísticamente diferente al de la semana 0 y al de la semana 8 de almacenamiento (4.44 ± 0.02 mg/100 g). El cambio significativo en esta muestra fue de la semana 6 a la semana 8 de almacenamiento.

La muestra TAH-BM (de la localidad Tahdziu y de floración Box Muk) reportó un Valor-P de 0.0002. De acuerdo con su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) los cambios significativos se dieron en las primeras semanas de evaluación, puesto que hubo diferencia estadísticamente significativa de concentración HMF de la semana 0 de almacenamiento (3.55 ± 0.14 mg/100 g) a la semana 2 (4.02 ± 0.03 mg/100 g), y luego otro cambio significativo de la semana 2 a la semana 4 de almacenamiento (4.47 ± 0.02 mg/100 g), a partir de ahí el resultado de la semana 4 compartió similitud con el obtenido en la semana 6 (4.57 ± 0.02 mg/100 g); y finalmente el de la semana 8 de almacenamiento (4.73 ± 0.06 mg/100 g) compartió similitud con el de la semana 6, pero estadísticamente diferente al resto.

En la muestra TAH-DZ (de la localidad Tahdziu y de floración Dzidzilche) se mostró un Valor-P de 0.0000. Según su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) su comportamiento fue muy parecido al de la muestra anterior. El resultado HMF obtenido en la semana 0 de almacenamiento (3.76 ± 0.07 mg/100 g) fue estadísticamente diferente al de la semana 2 (4.59 ± 0.03 mg/100 g), y este último fue estadísticamente diferente al de la semana 4 de almacenamiento (4.84 ± 0.03 mg/100 g), el de la semana 4 fue estadísticamente igual al de la semana 6 (4.90 ± 0.05 mg/100 g) y a partir de ahí hubo otro cambio significativo de la semana 6 a la semana 8 de almacenamiento (5.51 ± 0.04 mg/100 g).

La muestra TAH-JA (de la localidad Tahdziu y de floración Jabin) presentó un Valor-P de 0.0000. En su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) se mostró que su comportamiento fue similar al de la muestra anterior. Los resultados de concentración HMF fueron de 3.74 ± 0.03 , 4.43 ± 0.05 , 4.71 ± 0.05 , 4.77 ± 0.04 y 4.89 ± 0.04 mg/100 g para las semanas 0, 2, 4, 6 y 8, respectivamente.

La muestra POTI-DZ (de la comunidad Popolnah, Tizimín y de floración Dzidzilche) obtuvo un Valor-P de 0.0000. En su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) se observó que los cambios significativos se dieron en las primeras semanas, la concentración HMF de la semana 0 de almacenamiento (0.70 ± 0.03 mg/100 g) fue estadísticamente diferente al de la semana 1 (0.84 ± 0.02 mg/100 g), y este último fue estadísticamente diferente al de la semana 3 de almacenamiento (1.06 ± 0.04 mg/100 g); la concentración HMF de la semana 3 compartió similitud con el de la semana 5 de almacenamiento (1.12 ± 0.06 mg/100 g); el resultado de la semana 7 de almacenamiento (1.17 ± 0.01 mg/100 g) compartió similitud con el de la semana 5, pero fue estadísticamente diferente al resto. Hubo otro cambio significativo de la semana 7 a la semana 8 de almacenamiento (1.30 ± 0.04 mg/100 g).

Para la muestra POTI-TX (de la comunidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-xtabentun) se obtuvo un Valor-P de 0.0000. En su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) se observó que el contenido HMF evaluado en la semana 0 de almacenamiento (0.47 ± 0.06 mg/100 g) compartió similitud con el de la semana 1 (0.55 ± 0.02 mg/100 g), el resultado obtenido en la semana 3 (0.60 ± 0.03 mg/100 g) compartió similitud con la concentración obtenida en la semana 1, pero fue estadísticamente diferente al de la semana 0. Los cambios significativos se dieron a partir de la semana 3 a la semana 5 de almacenamiento (0.74 ± 0.03 mg/100 g), de la semana 5 a la semana 7 de almacenamiento (0.87 ± 0.02 mg/100 g) y finalmente de la semana 7 a la semana 8 de almacenamiento (0.96 ± 0.02 mg/100 g).

La muestra PE-DZ (de la comunidad Peto y de floración Dzidzilche) presentó un Valor-P de 0.0002. En su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) se mostró que las primeras tres concentraciones obtenidas con valores HMF de 3.37 ± 0.02 , 3.40 ± 0.06 y 3.45 ± 0.05 mg/100 g correspondientes a las semanas de almacenamiento 0, 1 y 3 fueron iguales estadísticamente. Las diferencias estadísticas comenzaron a partir de la semana 3 a la semana 5 de almacenamiento (3.63 ± 0.06 mg/100 g), de la semana 5 a la semana 7 de almacenamiento (3.78 ± 0.04 mg/100 g), y el último cambio significativo se dio de la semana 7 a la semana 8 de almacenamiento (3.96 ± 0.05 mg/100 g).

La muestra PE-DZJACHA (de la comunidad Peto y de floración Dzidzilche, Jabin-Chaká) reportó un Valor-P de 0.0000. En su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) se pudo observar que todas sus concentraciones HMF presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí, convirtiéndose en una de las muestras con menor estabilidad en cuanto al contenido HMF. Las concentraciones HMF fueron de 1.53 ± 0.02 , 1.86 ± 0.03 , 2.12 ± 0.02 , 2.36 ± 0.06 , 2.56 ± 0.03 y 2.93 ± 0.02 mg/100 g para las semanas de almacenamiento 0, 1, 3, 5, 7 y 8, respectivamente.

La muestra PE-CHAJA (de la comunidad Peto y de floración Chaká-Jabin) mostró un Valor-P de 0.0000. Su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) reportó cambio significativos entre las primeras semanas de almacenamiento, pues la concentración HMF obtenida en la semana 0 de almacenamiento (0.45 ± 0.03 mg/100 g) fue estadísticamente diferente al de la semana 1 (0.73 ± 0.03 mg/100 g), y de la semana 1 a la semana 3 de almacenamiento (0.99 ± 0.02 mg/100 g) hubo otro cambio significativo; la concentración HMF obtenida en la semana 5 de almacenamiento (1.03 ± 0.05 mg/100 g) compartió similitud con el de la semana 3 y con el obtenido en la semana 7 de almacenamiento (1.11 ± 0.03 mg/100 g), este último no compartió similitud con el de la semana 3; y último cambio significativo se dio de la semana 7 a la semana 8 de almacenamiento (1.38 ± 0.03 mg/100 g).

En el caso de la muestra PE-TAVESOL (de la localidad Peto y de floración Tahonal, Vejucó, Solen AK.) se presentó un Valor-P de 0.0460. En su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) se mostró todas sus concentraciones HMF obtenidas compartieron similitudes entre sí, convirtiéndose en la muestra con mayor estabilidad. Sus primeras tres concentraciones obtenidas con valores HMF de 3.77 ± 0.02 , 3.76 ± 0.04 , 3.83 ± 0.10 mg/100 g para las semanas 0, 1 y 3 fueron iguales estadísticamente; la concentración HMF obtenida en la semana 5 de almacenamiento (3.85 ± 0.02 mg/100 g) fue estadísticamente igual a la de la semana 7 (3.90 ± 0.04 mg/100 g), y ambas compartieron similitud con las semanas anteriores (0, 1 y 3); finalmente la concentración HMF obtenida en la semana 8 de almacenamiento (3.99 ± 0.03 mg/100 g) solo compartió similitud con las de las semanas 5 y 7.

Por otra parte, la muestra COL-CR (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Celda real”) reportó un Valor-P de 0.0001. Su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) presentó diferencias significativas entre las primeras y últimas semanas de evaluación. La concentración HMF obtenida en la semana 0 de almacenamiento (1.46 ± 0.15 mg/100 g) fue estadísticamente diferente al de la semana 1 (1.68 ± 0.09 mg/100 g), a partir de ese momento el contenido de HMF obtenido en la semana 1 fue estadísticamente igual al de la semana 3 (1.69 ± 0.03 mg/100 g) y al de la semana 5 de almacenamiento (1.68 ± 0.03 mg/100 g); otro cambio significativo se dio de la semana 5 a la semana 7 de almacenamiento (2.29 ± 0.03 mg/100 g) y el último cambio significativo fue de la semana 7 a la semana 8 de almacenamiento (2.63 ± 0.02 mg/100 g).

Por su parte, la muestra COL-DP (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del panal”) mostró un Valor-P de 0.0000. Según su tabla de múltiples rangos (Figura H-1), la concentración HMF obtenida en la semana 0 de almacenamiento (6.67 ± 0.02 mg/100 g) compartió similitud con la de la semana 1 (6.72 ± 0.02 mg/100 g); la de la semana 3 de almacenamiento (6.79 ± 0.06 mg/100 g) compartió similitud con la de la semana 1, pero no con la de la semana 0; se dio un cambio significativo de contenido HMF de la semana 3 a la semana 5 de almacenamiento (6.98 ± 0.02 mg/100 g), este último fue estadísticamente igual al de la semana 7 (7.06 ± 0.04 mg/100 g); y el resultado HMF de la semana 7 a la semana 8 de almacenamiento (7.16 ± 0.03 mg/100 g) reportó una diferencia estadística.

Por otro lado, la muestra COL-CZ (de la localidad Baja-el salado y de floración Chico, Zarza) reportó un Valor-P de 0.0003. De acuerdo con su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) la concentración HMF obtenida en la semana 0 de almacenamiento (0.12 ± 0.01 mg/100 g) fue estadísticamente igual al de la semana 2 (0.15 ± 0.01 mg/100 g), a partir de ahí, se originaron cambios significativos de concentración HMF de la semana 2 a la semana 4 de almacenamiento (0.24 ± 0.01 mg/100 g), y de la semana 4 a la semana 6 de almacenamiento (0.29 ± 0.02 mg/100 g).

Por consiguiente, la muestra COL-SCE (de la localidad Baja-el salado y de floración Santa cruz, Emelina) presentó un Valor-P de 0.0216. Según su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) existió una diferencia significativa de concentración HMF de la semana 0 de almacenamiento (0.56 ± 0.05 mg/100 g) a la semana 2 (0.75 ± 0.06 mg/100 g), el resultado de contenido HMF obtenido en la semana 2 de almacenamiento fue estadísticamente igual al de las semanas 4 y 6 que presentaron valores HMF de 0.80 ± 0.08 y 0.84 ± 0.02 mg/100 g, respectivamente.

Mientras que, la muestra COL-CAZIO (de la localidad Media-Vereda Padula y de floración Campanilla, Zio) mostró un Valor-P de 0.0023. En su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) se observó que la concentración HMF obtenida en la semana 0 de almacenamiento (1.60 ± 0.11 mg/100 g) fue estadísticamente igual al de la semana 2 (1.63 ± 0.07 mg/100 g), y el resultado de contenido HMF obtenido en la semana 4 de almacenamiento (2.25 ± 0.05 mg/100 g) fue estadísticamente igual al de la semana 6 (2.30 ± 0.01 mg/100 g). El cambio significativo en esta muestra se dio de la semana 2 a la semana 4 de almacenamiento.

Finalmente, la muestra COL-CZMB (de la localidad Alta-Canzona y de floración Campanilla, Zio, Mararraton y Bara de humo) presentó un Valor-P de 0.0000. Su tabla de múltiples rangos (Figura H-1) mostró que ninguna de sus concentraciones HMF obtenidas compartieron similitudes entre sí, lo que la convirtió en una de las muestras con menor estabilidad en cuanto al contenido de HMF. Las concentraciones de HMF fueron de 3.90 ± 0.04 , 4.22 ± 0.06 , 4.90 ± 0.03 y 5.81 ± 0.04 mg/100 g para las semanas 0, 2, 4 y 6, respectivamente.

Con base a lo descrito anteriormente, Van Putten et al. (2013) establece tres principales vías de formación HMF: por deshidratación de hexosas (vía acíclica y cíclica), por reacción de Maillard y por condensación aldólica. En la mayoría de los casos la aparición de HMF se da más por la reacción de Maillard o por deshidratación de hexosas. Para las mieles analizadas en esta prueba existe una gran probabilidad que la formación de HMF haya ocurrido por estas dos vías (reacción de Maillard y/o deshidratación de hexosas).

Aunque el proceso de reacción de Maillard se da mejor en temperaturas elevadas, existen ocasiones en las que también ocurre cuando en un solo lugar de almacenamiento se encuentran varias muestras de miel a temperatura ambiente (Osorio et al., 2018). En esta prueba las muestras de miel se almacenaron en el mismo lugar a temperatura ambiente, por lo que, de acuerdo con Osorio et al., (2018) es muy probable que la aparición de HMF haya ocurrido por medio de esta cinética.

Por otra parte, la producción de HMF por medio de la deshidratación de las hexosas se determina en la primera fase conocida como enolización, que se trata de una isomerización reversible de glucosa a fructosa. La enolización ocurre de mejor manera en aquellas mieles que presentan un contenido más alto de fructosa que de glucosa; puesto que la reacción en la fructosa es más rápida que en la glucosa, lo que conlleva a la producción de altos rendimientos de HMF (Van Putten et al., 2013 y Shapla et al., 2018). Con lo mencionado anteriormente, es muy posiblemente que las mieles que presentaron un comportamiento de menor estabilidad en cuanto a su contenido inicial de HMF, es decir aquellas muestras de miel que reportaron incrementos (%) altos de HMF (Ver Figura 19) se puede deber a que contienen más concentraciones altas de fructosa que de glucosa.

Las muestras de miel analizadas durante esta prueba fueron almacenadas a temperatura ambiente con un promedio de 28.7 °C, una temperatura considera como clima tropical según Montaña et al. (2019). Algunos autores indican que el HMF puede formarse incluso en temperaturas de 20 °C en un par de meses, por lo que recomiendan un almacenamiento en un rango de temperaturas de 12 - 15°C (Chávez, 2010 y Martínez, 2013). Sin embargo, así como el HMF puede formarse por las temperaturas elevadas y en tiempos prolongados de almacenamiento, también puede formarse cuando las muestras se almacenan en temperaturas bajas y en medios ácidos (Da Silva et al., 2015 y Shapla et al., 2018).

Para aquellas muestras que presentaron un contenido de HMF desproporcionado en relación con el tiempo de almacenamiento pudo deberse incluso a la composición química de la miel como por ejemplo el pH, la acidez, el contenido de humedad, el perfil de azúcares, la presencia de ácidos orgánicos e incluso su origen floral son factores que también pueden variar el contenido de HMF en las mieles (Da Silva et al., 2015 y Shapla et al., 2018). Aunque por otra parte esto pudiese deberse al error o variación de resultados que existe entre los instrumentos que también se le conoce como sensibilidad analítica (Eurachem, 2016).

9.4 Determinación del contenido de azúcares reductores directos (ARD)

La determinación del contenido de ARD se realizó con base a la metodología descrita en la sección “8.5 Determinación del contenido de azúcares reductores directos (ARD)” disponible en el capítulo VIII “Materiales y métodos” de este documento. Por cada serie de determinaciones se realizaba una curva de calibración por lo que se generaron seis curvas de calibración con un buen ajuste de R^2 con valores de 0.9978, 0.9981, 0.9974, 0.9974, 0.9977 y 0.9976, para la 1°, 2°, 3°, 4°, 5° y 6° curva de calibración, respectivamente. A continuación, se presenta la curva de calibración y/o curva patrón de glucosa obtenida durante la realización de esta prueba (Figura 21).

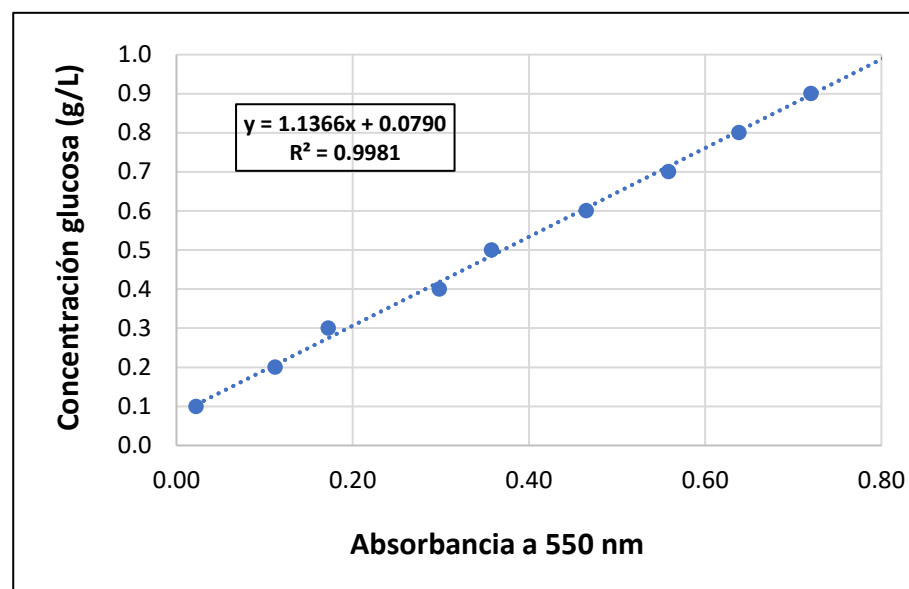


Figura 21. Curva patrón de glucosa realizada durante la realización de la prueba.

La ecuación obtenida mediante la curva de calibración fue utilizada para realizar los cálculos necesarios para determinar las concentraciones de ARD (g/L) en las muestras de miel analizadas durante esta prueba. A continuación, se presenta la ecuación obtenida:

Ecuación 3. Ecuación de la Curva patrón de glucosa: $y = 1.1366x + 0.0790$

Los resultados de concentración ARD (g/L) obtenidos en cada serie de determinaciones durante esta prueba se encuentran disponibles en el ANEXO I de este documento (Tabla I-1 a Tabla I-6). Dichos resultados se expresaron en % de azúcares presentes en la miel. La Tabla que aparece a continuación (Tabla 10) contiene la concentración inicial ARD (%(g/L)) de las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas durante esta prueba a temperatura ambiente, así como la concentración final de ARD (%(g/L)) obtenida después de su análisis a temperatura ambiente durante su correspondiente tiempo de almacenamiento (ocho semanas para las muestras de Yucatán, México y las comerciales de Colombia; y seis semanas para las muestras de Montes de María, Colombia), y finalmente en la tabla (Tabla 10) también se puede apreciar el porcentaje (%) reducido de ARD.

Tabla 10. Resultados de la concentración inicial y final del contenido de ARD (g/L) determinado en muestras de miel (*A. mellifera*).

Nota: Valores en una misma columna diferentes estadísticamente a $P < 0.05$ (g/L).

*: Porcentaje (%) reducido ARD almacenamiento.

**: Porcentaje (%) reducido ARD almacenamiento.

Los valores de concentración inicial y graficados en la figura que aparece muestra los resultados de ARD respectiva desviación estándar, permisible de cuantificación ARD Codex Alimentarius y la legislación 2023; ICONTEC, 2007 y DOF,

No. Muestra	Código	Concentración inicial ARD (g/L)		Concentración final ARD (g/L)		Disminución de ARD (g/L)	Porcentaje (%) reducido ARD
1	SIP-PT	68.40	± 0.79 ^a	60.40	± 3.95 ^c	8.05	12%*
2	ACEK-DZ	74.80	± 3.83 ^{fg}	68.80	± 3.97 ⁱ	6.05	8%*
3	ACEK-JA	76.20	± 1.55 ⁱ	70.40	± 3.18 ^j	5.80	8%*
4	PIHOL-TD	75.30	± 3.14 ^{gh}	70.40	± 5.57 ^j	4.95	7%*
5	PIHOL-DJ	69.60	± 1.58 ^b	65.80	± 3.94 ^{fg}	3.80	6%*
6	TAH-BM	86.60	± 1.53 ^ñ	78.90	± 3.98 ⁿ	7.70	9%*
7	TAH-DZ	85.50	± 1.60 ⁿ	75.30	± 4.76 ^l	10.15	12%*
8	TAH-JA	84.10	± 1.55 ^m	76.00	± 4.74 ^l	8.10	10%*
9	POTI-DZ	74.40	± 2.29 ^e	61.30	± 3.13 ^d	13.10	18%*
11	POTI-TX	77.60	± 1.55 ^j	52.10	± 5.49 ^a	25.50	33%*
12	PE-DZ	74.50	± 2.36 ^{ef}	67.80	± 3.14 ^h	6.65	9%*
13	PE-DZJACHA	75.40	± 1.60 ^h	63.30	± 1.57 ^e	12.15	16%*
14	PE-CHAJA	77.30	± 3.18 ^j	57.40	± 3.91 ^b	19.85	26%*
15	PE-TAVESOL	70.70	± 1.60 ^c	67.80	± 2.34 ^h	2.85	4%*
C1 (16)	COL-CR	69.20	± 1.58 ^b	57.50	± 3.12 ^b	11.70	17%*
C2 (17)	COL-DP	82.00	± 2.41 ^l	77.80	± 3.09 ^m	4.20	5%*
A (18)	COL-CZ	79.90	± 1.60 ^k	65.30	± 3.14 ^f	14.55	18%**
B (19)	COL-SCE	74.70	± 3.94 ^{ef}	66.50	± 3.18 ^g	8.30	11%**
C (20)	COL-CAZIO	72.60	± 1.59 ^d	64.10	± 3.93 ^e	8.55	12%**
D (21)	COL-CZMB	85.50	± 2.40 ⁿ	71.50	± 3.15 ^k	13.95	16%**

con una literal distinta (a, b, c...) son entre concentraciones de ARD

obtenido en ocho semanas de

obtenido en seis semanas de

final de ARD (g/L) fueron enseguida (Figura 22). La figura expresados en % de g/L, así como su además aparece el límite mínimo (60 g/100 g (60 %) propuesto por el mexicana y colombiana (FAO/OMS, 2020).

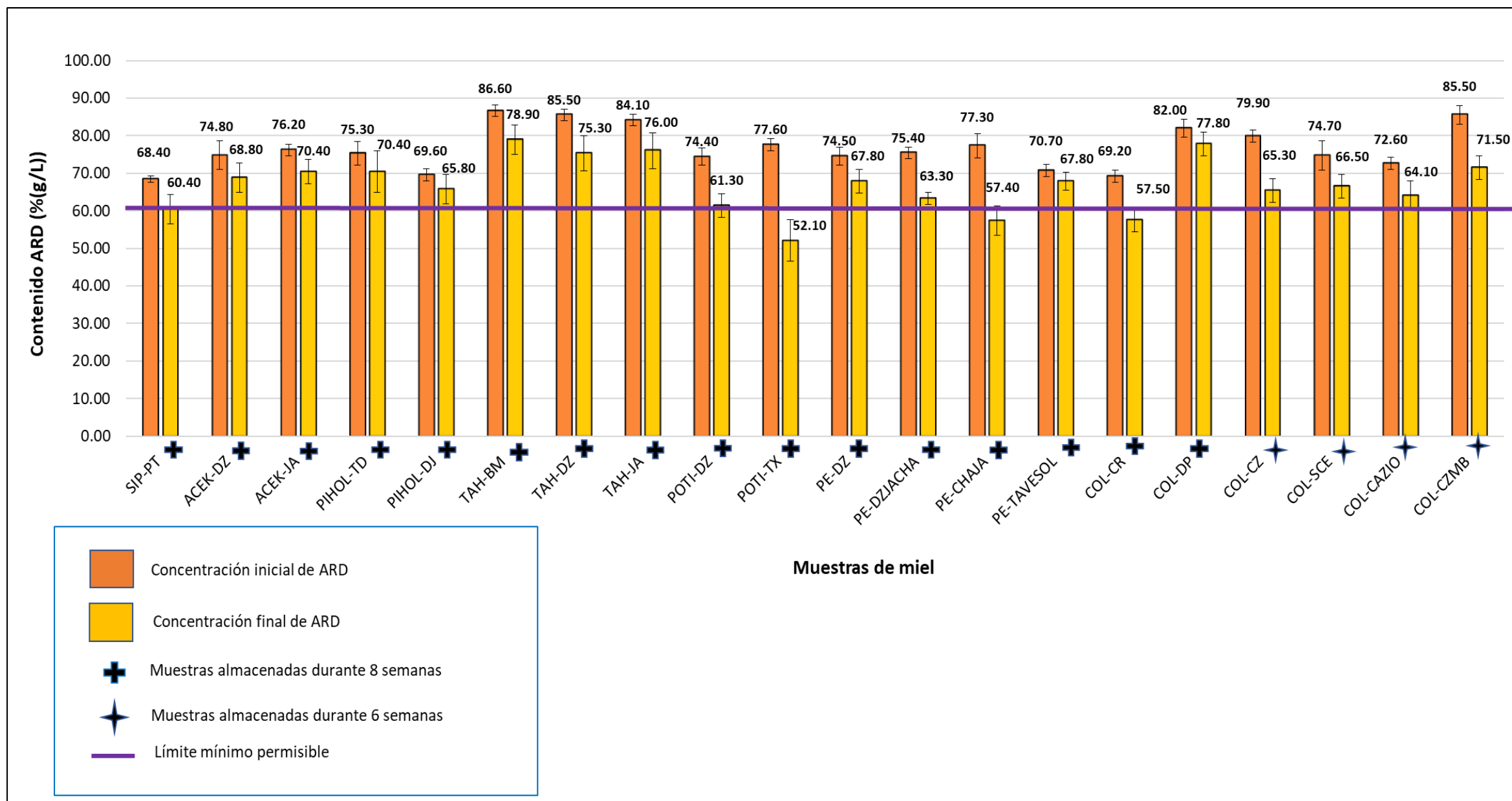


Figura 22. Concentración inicial y final del contenido ARD (%(g/L)) en las muestras de miel analizadas durante su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente.

Nota: De acuerdo con el Codex Alimentarius, la norma mexicana y la norma colombiana, el límite permisible de cuantificación ARD se expresa en m/m (60 g/100 g). Sin embargo, en esta prueba el resultado de concentración ARD de las muestras de miel se expresó en m/V, esto debido a que cada dilución de muestra de miel se preparó de la misma manera durante su análisis (0.1 g de miel diluido en 100 ml de agua destilada). Lo anteriormente mencionado, se acordó debido a que fue más fácil considerar una densidad similar a la del agua (g/ml) en todas las muestras diluidas de miel, ha determinar la densidad de cada muestra de miel. Considerando lo anterior, se puede decir que, aunque los resultados hayan sido reportados en g/L (m/V) es lo mismo como si se expresaran en g/Kg es decir en unidades de m/m como lo establece la normatividad. A continuación, se muestra el cálculo de la densidad del agua y de las diluciones de las muestras de miel, para comprender de mejor manera lo descrito anteriormente:

Cálculo:

Ecuación 4. Densidad de una dilución: $D = \frac{\text{masa de dilución}}{\text{volumen de dilución}}$

Densidad del agua: La densidad del agua es g/ml, por lo tanto, un volumen de 100 ml contiene 100 g de agua. Entonces la densidad del agua es (100 g/100 ml) en 100 ml de agua. Por lo tanto, en un litro de agua hay 1000 g de agua.

Densidad de las diluciones:

Datos:

Soluto: 0.1 g de miel

Solvente: 100 g de agua

Volumen de la dilución: 100 ml de agua

$D = \frac{0.1 \text{ g} + 100 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = 1.001 \text{ g/ml}$ esta densidad es parecida a la del agua (1 g/ml), por lo que en un volumen de 1 L la densidad para cada dilución sería de 1001 g/L muy parecida a la del agua en un volumen de un 1 L (1000 g/L).

De acuerdo con los datos de la figura anterior (Figura 22) se dedujeron los resultados que se muestran a continuación en los siguientes apartados.

9.4.1 Concentración inicial de ARD en las muestras de miel analizadas.

En la primera evaluación de las muestras de miel a nivel general su concentración inicial de ARD mostró resultados en un rango de 68.40 - 86.60 % de ARD presentes en las mieles. A nivel general, las muestras originarias de Yucatán fueron las protagonistas, puesto que la muestra SIP-PT (de la localidad Sierra papacal y de floración Palo de tiente) presentó el menor contenido de ARD con un valor de 68.40 % (684 ± 0.79 g/L) y la muestra TAH-BM (de la localidad Tahdziu y de floración Box Muk) reportó el contenido más alto de ARD con un valor de 86.60 % (866 ± 1.53 g/L)

Para las muestras provenientes de Colombia, fue la muestra COL-CR (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Celda real”) la que presentó la menor concentración de ARD con un valor de 69.20 % (692 ± 1.58 g/L), mientras que la muestra COL-CZMB (de la localidad Alta-Canzona y de floración Campanilla, Zio, Mararraton y Bara de humo) fue la que mostró la mayor concentración de ARD con un resultado de 85.50 % (855 ± 2.40 g/L).

El ANOVA realizado para la concentración inicial de ARD de las muestras de miel analizadas (Figura J-1, parte derecha) disponible en el ANEXO J, demostró con un 95 % de confianza, que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones ARD de las muestras de miel analizadas, ya que el resultado de Valor-P fue de 0.0000 una cifra menor que el valor $\alpha=0.05$. De acuerdo con la tabla de múltiples rangos (Figura J-1 parte derecha; ver ANEXO J), algunas muestras de miel compartieron similitudes con otras muestras, y algunos de esos casos fueron los siguientes:

La muestra COL-CR (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Celda real”) fue estadísticamente similar a la muestra PIHOL-DJ (de la localidad Pixyah, Holenchen y de floración Dzidzilche-Jabin) con valores de concentración ARD de 69.20 % (692 ± 1.58 g/L) y 69.60 % (696 ± 1.58 g/L), respectivamente.

La muestra PE-DZ (de la localidad Peto y de floración Dzidzilche) con un valor ARD de 74.50 % (745 ± 2.36 g/L) fue estadísticamente similar a la muestra COL-SCE (de la localidad Baja-el salado y de floración Santa cruz, Emelina) que presentó un valor ARD de 74.70 % (747 ± 3.94 g/L); ambas muestras compartieron similitudes con la muestra POTI-DZ (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Dzidzilche) y con la muestra ACEK-DZ (de la localidad Acanceh y de floración Dzidzilche) las cuales reportaron concentraciones ARD de 74.40 % (744 ± 2.29) y 74.80 % (748 ± 3.83 g/L), respectivamente.

Por su parte, la muestra ACEK-DZ (de la localidad Acanceh y de floración Dzidzilche) también compartió similitud con la muestra PIHOL-TD (de la localidad Pixyah, Holenchen y de floración Tahonal-

Dzidzilche) que mostró un valor ARD de 75.30 % (753 ± 3.14 g/L); y la muestra PE-DZJACHA (de la localidad Peto y de floración Dzidzilche, Jabin-Chaká) con un valor ARD de 75.40 % (754 ± 1.60 g/L) solo compartió similitud con la muestra PIHOL-TD de la localidad Pixyah, Holenchen y de floración Tahonal-Dzidzilche).

Las siguientes muestras fueron iguales estadísticamente, PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin) y POTI-TX (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-xtabentun) las cuales reportaron concentraciones ARD de 77.30 % (773 ± 3.18 g/L) y 77.70 % (766 ± 1.55 g/L), con respecto a las muestras mencionadas anteriormente.

Finalmente, las muestras COL-CZMB (de la localidad Alta-Canzona y de floración Campanilla, Zio, Mararraton y Bara de humo) y TAH-DZ (de la localidad Tahdziu y de floración Dzidzilche) fueron similares estadísticamente, al reportar contenidos de ARD de 85.50 % (855 ± 2.40 g/L) y 85.50 % (855 ± 1.60 g/L).

Con respecto a la Figura 22, en el inicio de la prueba todas las muestras de miel analizadas cumplieron con el límite mínimo permisible de ARD (60 g/100 g (60 %)) establecido por el Codex Alimentarius y la normatividad mexicana y colombiana (FAO/OMS, 2023; ICONTEC, 2007 y DOF, 2020).

9.4.2 Concentración final de ARD en las muestras de miel analizadas.

Durante la evaluación final del contenido de ARD en las muestras de miel se presentaron valores de ARD en un rango de 52.10 – 78.90 %, el resultado obtenido fue muy parecido a los reportados por otros autores, por ejemplo, Martínez (2020) quién presentó un rango de 41.50 - 76.73 % de contenido ARD, al haber analizado diez muestras de miel *A. mellifera* (Apidae) de Durango, México recolectadas en 2018 de las temporadas de primavera y otoño, las cuales fueron almacenadas a 4 °C hasta el momento de su análisis mediante el método volumétrico de Lane-Eynon establecido en NMX-F-312-1978.

Otro caso similar, fue el reportado por Lemos et al. (2017) en un grupo de mieles *A. mellifera* recolectadas entre 2012 y 2013 y almacenadas en botes de plástico a 4 °C hasta el momento de su análisis, el cual fue realizado mediante la metodología propuesta por el Instituto Adolfo Lutz (2008) y mostró concentraciones ARD en un rango de 53.55 - 82.00 %.

Por otro lado, De Castro et al. (2017) analizaron el contenido de ARD según el método modificado de Lane y Eynon en quince muestras de miel *A. mellifera* de Brasil cosechadas entre 2014 y 2016, generando

resultados de concentración ARD en un rango de 68.03 - 75.19 %. Y por su parte, Velásquez y Goetschel (2019) reportaron concentraciones de ARD en un rango de 65 - 75 %, al haber analizado el contenido de ARD según el método de Luff-Schoorl propuesto por la AOAC en veintisiete muestras comerciales de miel *A. mellifera* de Ecuador.

Las muestras procedentes de Yucatán, México se llevaron nuevamente el protagonismo a nivel general, pues nuevamente la muestra TAH-BM (de la localidad Tahdziu y de floración Box Muk) reportó la máxima concentración ARD con un valor de 78.90 % (789 ± 3.98 g/L), algunos valores cercanos a este, fue uno reportado por De Castro et al. (2017) cuyo valor fue de 75.19 %, otro reportado por Martínez (2020) el cual fue de 76.73 % y algunos de Velásquez y Goetschel (2019) cuyos valores fueron de 75.20 % y 75.66 %, todos encontrados en muestras de miel *A. mellifera*. Por otra parte, la muestra POTI-TX (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-xtabentun) presentó la concentración mínima de ARD con un valor de 52.10 % (521 ± 5.49 g/L), valor muy similar a uno reportado por Lemos et al. (2017) en una muestra de miel *A. mellifera* cuyo valor fue de 53.55 % y algunos otros reportados por Martínez (2020) en *A. mellifera* con valores de 53.04 %, 54.46 % y 52.46 %.

En las muestras originarias de Colombia, fue la muestra COL-CR (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Celda real”) la que nuevamente presentó la menor concentración de ARD con un valor de 57.50 % (575 ± 3.12 g/L) valor similar a uno reportado por Martínez (2020) en *A. mellifera* cuyo resultado de ARD fue de 58.34 %. Por su parte, la muestra COL-DP (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del panal”) tomó su lugar en esta lista como la muestra con el contenido más alto de ARD con valor de 77.80 % (778 ± 3.09 g/L), algunos valores cercanos a este valor son aquellos con los que se compara a la muestra TAH-BM (de la localidad Tahdziu y de floración Box Muk), los cuales se mencionan en el párrafo anterior.

Con base en el ANOVA realizado para la concentración final de ARD de las muestras de miel analizadas (Figura J-1 parte izquierda; ver ANEXO J) se demostró con un 95 % de confianza que entre las concentraciones de ARD existe una diferencia estadísticamente significativa, pues su Valor-P fue de 0.0000 el cual es una cifra de menor valor comparada con el valor de $\alpha = 0.05$. Según la tabla de múltiples rangos (Figura J-1 parte izquierda; ver ANEXO J) se pudo observar que algunas muestras fueron iguales estadísticamente o compartieron similitudes en cuanto a su contenido de ARD, los casos fueron los siguientes:

Las muestras PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin) y COL-CR (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Celda real”) fueron iguales estadísticamente, reportando concentraciones de ARD

con valores de 57.40 % (574 ± 3.91 g/L) y 57.50 % (575 ± 3.12 g/L), respectivamente. El valor más similar a los anteriores fue uno reportado por Martínez (2020) cuyo valor ARD fue de 58.34 % en una muestra de miel *A. mellifera*.

Las muestras PE-DZJACHA (de la localidad Peto y de floración Dzidzilche, Jabin-Chaká) y COL-CAZIO (de la localidad Media-Vereda Padula y de floración Campanilla, Zio) fueron similares estadísticamente, presentando concentraciones ARD con valores de 63.30 % (633 ± 1.57 g/L) y 64.10 % (641 ± 3.93 g/L), respectivamente. Algunos resultados más cercanos fueron unos reportados por Velásquez y Goetschel (2019) en miel *A. mellifera* con concentraciones ARD de 65.28 % y 65.02 %.

La muestra PIHOL-TD (de la comunidad Pixyah, Holenchen y de floración Tahonal-Dzidzilche) fue estadísticamente igual a la muestra ACEK-JA (de la comunidad Acanceh y de floración Jabin), reportando concentraciones ARD de 70.40 % (704 ± 5.57 g/L) y 70.40 % (704 ± 3.18 g/L), correspondientemente. Estos valores fueron similares a unos reportados por De Castro et al. (2017) en *A. mellifera* con concentraciones ARD de 70.17 % y 70.92 %.

Un par de muestras de la localidad Peto fueron iguales estadísticamente, PE-TAVESOL (de floración Tahonal, Vejucó, Solen AK.) la cual reportó una concentración de ARD de 67.80 % (678 ± 2.34 g/L) y PE-DZ (de floración Dzidzilche) que presentó una concentración ARD de 67.80 % (678 ± 3.14 g/L), valores que fueron similares a los reportados por autores como De Castro et al. (2017) en una muestra de miel *A. mellifera* con un valor ARD de 68.03 % y algunos de Lemos et al. (2017) en mieles *A. mellifera* con valores de 67.03 %, 66.17 % y 66.11 %.

También un par de muestras de la localidad Tahdziu fueron iguales estadísticamente, TAH-DZ (de floración Dzidzilche) y TAH-JA (de floración Jabin) mostrando valores de contenido ARD de 75.30 % (753 ± 4.76 g/L) y 76.00 % (760 ± 4.74 g/L), respectivamente. Uch-Samos et al. (2019) reportó una concentración ARD parecida a las anteriores, cuyo valor fue de 75.2 % encontrado en una miel *A. mellifera* multifloral de Yucatán por medio del método de Lane y Eyton modificado según la NMX-F-036-NORMEX-2006.

Finalmente, la muestra PIHOL-DJ (de la comunidad Pixyah, Holenchen y de floración Dzidzilche-Jabin) la cual reportó una concentración ARD de 65.80 % (658 ± 3.94 g/L) compartió similitud con las muestras COL-CZ (de la comunidad Baja-el salado y de floración Chico, Zarza) y COL-SCE (de la comunidad Baja-el salado y de floración Santa cruz, Emelina), las cuales reportaron concentraciones ARD de 65.30

% (653 ± 3.14 g/L) y 66.50 % (665 ± 3.18 g/L), correlativamente. Cabe mencionar que la muestra COL-CZ (de la comunidad Baja-el salado y de floración Chico, Zarza) es estadísticamente diferente a la muestra COL-SCE (de la comunidad Baja-el salado y de floración Santa cruz, Emelina). Estos valores fueron similares a algunos reportados por Velásquez y Goetschel (2019) que presentó un valor ARD de 65.79 %, y uno reportado por Lemos et al. (2017) cuyo valor de contenido ARD fue de 65.94 %, ambos resultados analizados en muestras de miel *A. mellifera*.

Moguel et al. (2005) determinaron el contenido de ARD según los métodos analíticos propuestos por la CEM en miel *A. mellifera* de floración dzidzilché recolectada en 2001 y almacenada a temperatura ambiente (26 °C) hasta el día de su análisis no superior a dos semanas. Según sus resultados obtenidos, la miel dzidzilché reportó una concentración ARD del 77 % valor parecido a uno obtenido en esta prueba de para la muestra TAH-DZ (de la localidad Tahdziu y de floración Dzidzilché) que presentó un contenido ARD de 75.30 % después de ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente; el resto de las muestras de floración Dzidzilché reportaron concentraciones ARD en un rango del 60 - 70 %.

Con base a la Figura 22, se observó que el 15 % de las veinte muestras de miel analizadas no cumplieron con el límite mínimo permisible de azúcares reductores (60 % (60 g/100 g)) propuesto por el Codex Alimentarius y por las normatividad mexicana y colombiana (FAO/OMS, 2023; ICONTEC, 2007 y DOF, 2020). Las muestras que representaron ese 15 % fueron POTI-TX (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-xtabentun), PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin) y COL-CR (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Celda real”), las cuales mostraron contenido ARD con valores de 52.10 % (521 ± 5.49 g/L), 57.40 % (574 ± 3.91 g/L) y 57.50 % (575 ± 3.12 g/L), respectivamente.

Casos parecidos a esta prueba se dieron en el estudio reportado por Martínez (2020) que durante su evaluación reportó varias muestras de miel *A. mellifera* con resultados inferiores al 60 % de contenido ARD. Lemos et al. (2017) también reportó una muestra de miel *A. mellifera* con un contenido de ARD menor al 60 %.

Con base en aquellas muestras de miel que reportaron concentraciones de ARD menores al límite mínimo permitido (60 % (60 g/100 g)), es muy posible que se deba a distintos factores como lo es el contenido de humedad, la manipulación de las muestras durante la cosecha y las condiciones de almacenamiento (Martínez, 2020). Además, algunos otros autores indican que la composición de la miel también puede verse afectada por el tipo de fuente floral, la región de procedencia y las condiciones de almacenamiento

(Da Silva et al., 2015). Debido a lo anteriormente mencionado, algunos autores consideran al contenido de ARD como un parámetro crítico de evaluación en las mieles (Velásquez y Goetschel, 2019).

Con respecto al 85 % de las veinte muestras de miel analizadas que si cumplieron con el límite permitido (60 % (60 g/100 g); según Almeida-Muradian et al. (2020) el contenido de azúcares presentes en la miel representan del 60 - 85 %, en dónde alrededor del 75 % es representado por los monosacáridos (ARD), algunas muestras que cumplieron con estas condiciones fueron las muestras procedentes de la localidad Tahdziu TAH-BM (de floración Box Muk), TAH-DZ (de floración Dzidzilché) y TAH-JA (de floración Jabin), las cuales reportaron concentraciones ARD de 78.90 % (789 ± 3.98 g/L), 75.30 % (753 ± 4.76 g/L) y 76.00 % (760 ± 4.74 g/L), con respecto a las muestras mencionadas anteriormente; y otro caso fue la muestra COL-DP (de San Jacinto Bolívar y de la marca “Del panal”) que reportó una concentración ARD de 77.80 % (778 ± 3.09 g/L). Estas muestras podrían ser consideradas como mieles de calidad con respecto a su contenido de ARD. Sin embargo, Da Silva et al. (2015) indica que el contenido de monosacáridos (ARD) debe oscilar entre el 65 - 80 %, con lo cual se puede decir que el resto de las mieles analizadas también son mieles de calidad a excepción de aquellas que no cumplieron con el límite permitido.

9.4.3 Porcentaje (%) de reducción del contenido de ARD en las muestras de miel analizadas durante su almacenamiento a temperatura ambiente.

En la siguiente figura (Figura 23) aparece el porcentaje (%) de reducción del contenido de ARD que reportó cada muestra de miel durante su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente. El porcentaje (%) de reducción se calculó desde el inicio de la prueba (concentración inicial de ARD) hasta el momento de la última evaluación (concentración final de ARD); en dónde algunas muestras obtuvieron ese % de reducción en ocho semanas de almacenamiento, mientras que otras lo generaron en seis semanas. En la Figura 23 se muestra la simbología con los tiempos de almacenamiento.

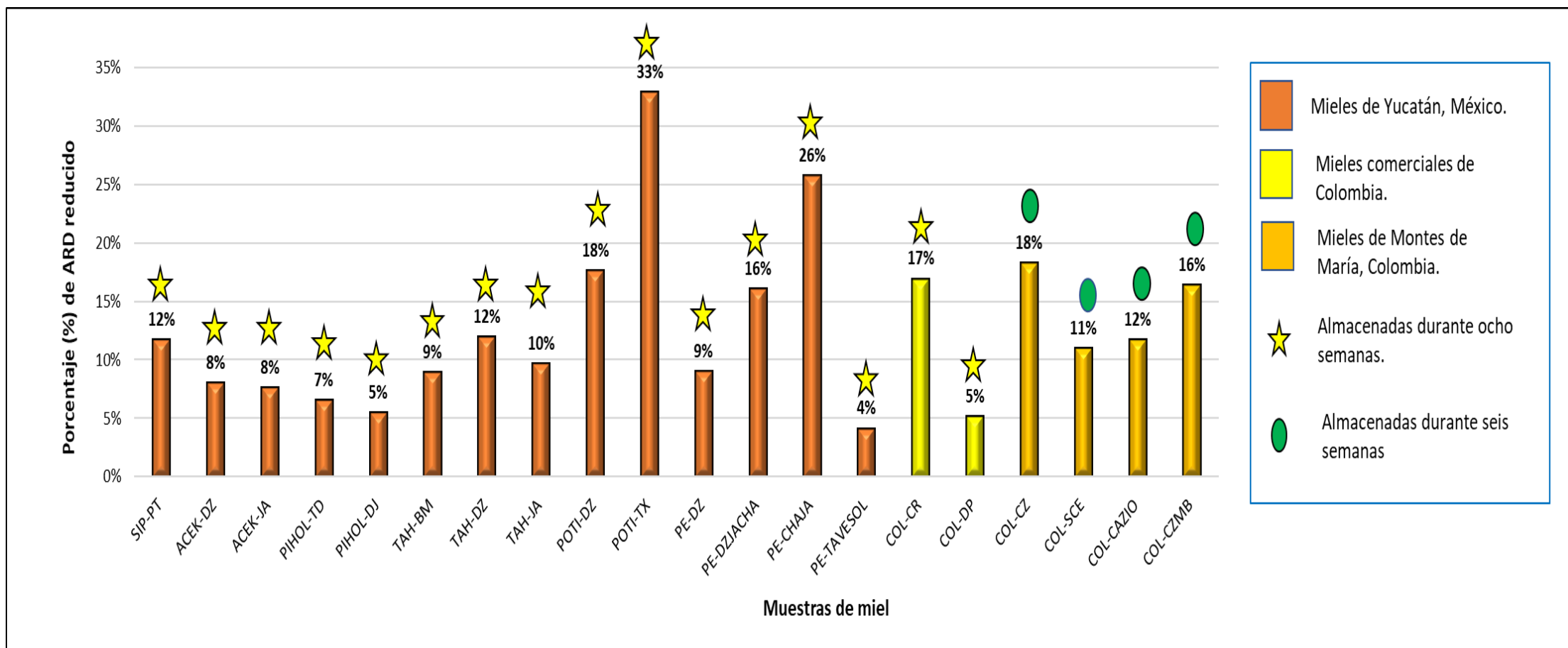


Figura 23. Porcentaje (%) reducido de ARD en cada una de las muestras de miel analizadas.

De acuerdo con la Figura 23 se pudo apreciar que a nivel general las muestras provenientes de Yucatán, México fueron donde se encontraron las muestras con el mayor y el menor porcentaje (%) de reducción en cuanto al contenido de ARD. La muestra POTI-TX (de la comunidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-xtabentun) representó el mayor porcentaje (%) de reducción con un valor del 33 % durante sus ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente (28.7 °C); mientras que el menor porcentaje (%) de reducción fue representado por la muestra PE-TAVESOL (de la comunidad Peto y de floración Tahonal, Vejucó, Solen AK.) que se redujo un 4 % en sus ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente (28.7 °C).

En cuanto a las muestras de procedentes de Colombia, la muestra COL-CZ (de la comunidad Baja-el salado y de floración Chico, Zarza) fue la que mostró el mayor porcentaje (%) de reducción, puesto que se redujo hasta en un 18 % durante sus seis semanas de almacenamiento a temperatura ambiente (28.7 °C), y por su parte, la muestra COL-DP (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del panal”) se redujo en un 5 % durante sus ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente (28.7 °C).

En la información recabada para este trabajo no se encontraron estudios que reportaran la evaluación de los azúcares reductores (ARD) durante el almacenamiento de mieles, generando dos resultados de contenido ARD y mostrando de esta manera el porcentaje (%) de reducción, por lo que no se tuvieron resultados para compararlos con los porcentajes (%) de reducción del contenido de ARD analizados en las muestras de miel (*A. mellifera*) de esta prueba. Sin embargo, la teoría de reducción de los azúcares se puede comprobar gracias a Machado De-Melo et al. (2017) quienes mencionan que durante el almacenamiento el contenido de monosacáridos (ARD) en la miel disminuye, mientras que el contenido de oligosacáridos aumenta.

9.4.4 Comportamiento del contenido de ARD en las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas.

La siguiente figura (Figura 24) muestra el comportamiento del contenido de ARD que se originó en las muestras de miel durante sus distintas semanas de evaluación a temperatura ambiente. En la Figura 24 se puede apreciar en el eje de las abscisas (X) el tiempo en semanas en que se evaluó cada una de las muestras de miel; mientras que en el eje de las ordenadas (Y) se encuentran los valores de concentración ARD expresados en g/L.

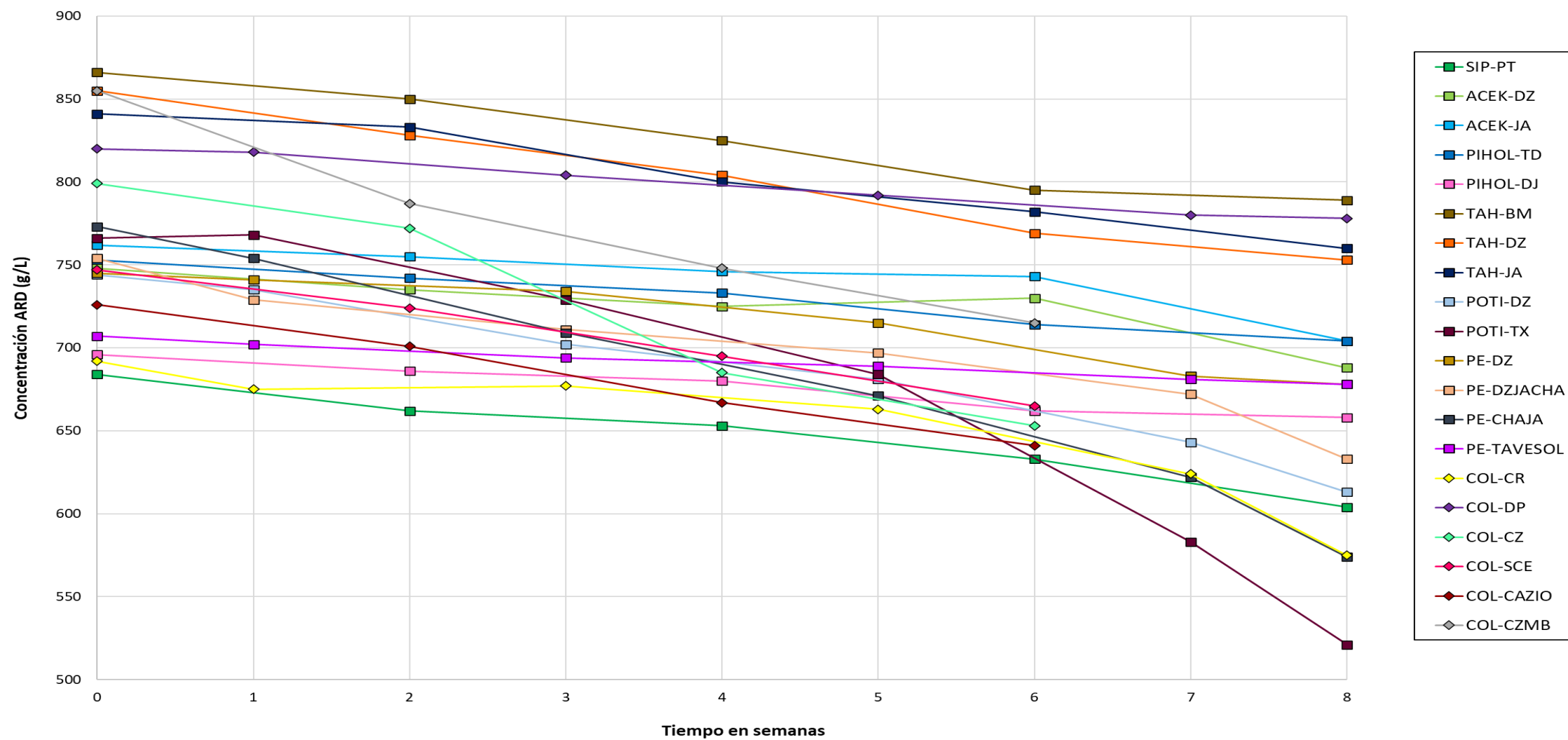


Figura 24. Comportamiento del contenido de ARD en las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas durante las semanas de almacenamiento a temperatura ambiente.

De acuerdo con la figura anterior se observó que el 85 % del total de las muestras de miel analizadas se mantuvieron por encima del rango permitido del 60 % (600 g/L)) durante su tiempo de almacenamiento (muestras procedentes de Yucatán y comerciales de Colombia durante ocho semanas y muestras procedentes de Montes de María durante seis semanas) a temperatura ambiente. Un 20 % de las muestras analizadas se mantuvieron en un rango de valores entre 750 - 870 g/L desde el inicio de la prueba hasta el final de esta; esas muestras fueron las muestras provenientes de la localidad Tahdziu TAH-BM (de floración Box Muk), TAH-DZ (de floración Dzidzilché) y TAH-JA (de floración Jabin) y la muestra COL-DP (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Del panal”). En el caso de la muestra TAH-BM (de la localidad Tahdziu y de floración Box Muk) fue la muestra que presentó la mayor concentración ARD desde el inicio de la prueba hasta el final de esta, y se mantuvo por encima de todas las muestras durante todas sus semanas de evaluación.

Un 70 % de las muestras analizadas se posicionaron en un rango que incluye valores entre 600 - 800 g/L desde el inicio de la prueba y solo algunas hasta el final de esta. Aquellas muestras que se mantuvieron en ese rango desde el inicio de la prueba hasta el final de esta fueron la muestra SIP-PT (de la localidad Sierra papacal y de floración Palo de tiente), las muestras de la comunidad Acanceh ACEK-DZ (de floración Dzidzilché) y ACEK-JA (de floración Jabin), las muestras de la comunidad Pixyah, Holenchen PIHOL-TD (de floración Tahonal-Dzidzilché) y PIHOL-DJ (de floración Dzidzilché-Jabin), la muestra POTI-DZ (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Dzidzilché), las muestras de la localidad Peto PE-DZ (de floración Dzidzilché), PE-DZJACHA (de floración Dzidzilché, Jabin-Chaká) y PE-TAVESOL (de floración Tahonal, Vejucó, Solen AK.), las muestras de la localidad Baja-el salado COL-CZ (de floración Chico, Zarza) y COL-SCE (de floración Santa cruz, Emelina) y la muestra COL-CAZIO (de la localidad Media-Vereda Padula y de floración Campanilla, Zio). En el caso de las muestras PE-CHAJA (de la comunidad Peto y de floración Chaká-Jabin) y COL-CR (de San Jacinto, Bolívar y de la marca “Celda real”) solo se mantuvieron en ese rango hasta su séptima semana de almacenamiento, puesto que en su última semana de evaluación (semana 8) su concentración de ARD se posicionó por debajo de los 600 g/L.

A nivel general, se observó que el comportamiento del contenido de ARD presente en las mieles fue disminuyendo conforme avanzaba el tiempo de almacenamiento, con lo cual se corrobora lo mencionado por Machado-De Melo et al. (2017) quienes indican que los monosacáridos (fructosa y glucosa) también conocidos como ARD disminuyen conforme avanza el tiempo de almacenamiento. Da Silva et al. (2020)

también fundamentan esto al mencionar que el tiempo de almacenamiento es uno de los principales factores en las propiedades fisicoquímicas de la miel *A. mellifera*.

La degradación de los azúcares según Van Putten et al. (2013) ocurre cuando el 1,2-enediol interfiere en el proceso provocando la isomerización de la glucosa a fructosa, este fenómeno ocurre principalmente debido a las altas temperaturas y a los tiempos prolongados de almacenamiento. Aunque también este proceso puede ocurrir a temperaturas bajas y en condiciones ácidas, pero el proceso ocurre de manera más lenta (Arias y López, 2019).

De acuerdo con Van Putten et al. (2013) la reacción de deshidratación puede ocurrir por medio de la vía cíclica o vía acíclica en dónde ocurre la formación de HMF, Arias y López (2019) reportan que en dónde la reacción se da mejor en las cetohexosas (fructosa) que en las aldohexosas (glucosa), en cualquiera de las dos cinéticas se liberan tres moléculas de agua generando compuestos como el 5-hidroximetil-2-furfural (HMF). Con base a lo anteriormente mencionado es muy posible que aquellas muestras que presentaron una degradación más rápida se deban a que contengan una concentración más alta de fructosa que de glucosa y viceversa para aquellas mieles que su degradación de azúcares se dio de manera más lenta.

El pH de la miel es un factor que también influye en el proceso de la deshidratación de los azúcares, puesto que el proceso de deshidratación de los azúcares también se ve beneficiada cuando se aplican tratamientos térmicos en valores bajos de pH y depende también de la presencia de ácidos orgánicos (Arias y López, 2019). Por lo que, con respecto a lo anteriormente mencionado es importante tomar en cuenta el pH de las muestras de miel y su contenido de ácidos orgánicos.

La humedad es uno de los factores que también influye en la composición de los azúcares, debido a su capacidad higroscópica de absorber y retener la humedad la cual depende la temperatura ambiente, el contenido de humedad presente en el aire y la humedad relativa (Machado De-Melo et al., 2017). Según Suescún y Vit (2008) la humedad es uno de los principales factores que se debe controlar durante el proceso y almacenamiento de una miel, puesto que en temperaturas bajas y gracias a la higroscopicidad esta podría fermentarse. Por lo cual, también es un factor de cuidado y se debe controlar las condiciones de humedad en las muestras de miel.

Por su parte, la reacción de Maillard es otro de los fenómenos principales que ocurren debido a las altas temperaturas en dónde ocurre una reacomodación de los productos azucarados (arreglo de Amadori)

gracias a la participación de un azúcar reductor (glucosa, fructosa y/o maltosa) y un grupo amino libre. Por medio de este comportamiento, los monosacáridos son más efectivos que los disacáridos (Arias y López, 2019). Según Osorio et al. (2018) los principales factores que afectan la reacción de Maillard son la temperatura y el tiempo. La intensidad de que esta reacción ocurra depende la hidratación del medio, puesto que la actividad máxima se origina en una humedad relativa entre el 50 -70 % y en aquellos productos que en su contenido de humedad oscila entre el 10 - 15 %.

Casos particulares del comportamiento del contenido de ARD, fue uno presentado por la muestra COL-CZMB (de la localidad Alta-Canzona y de floración Campanilla, Zio, Mararraton, Bara de humo) quien a simple a vista se observó que su degradación fue muy rápida, puesto que en un inicio su contenido de ARD presentó un valor de 85.50 % (855 ± 2.40 g/L) y después de seis semanas de almacenamiento a temperatura ambiente su concentración ARD fue de 71.50 % (715 ± 3.15 g/L) (ver Figura 22), lo que generó una reducción de ARD de 16 % (ver Figura 23) posicionándose en el 5° lugar junto con la muestra PE-DZJACHA (de la comunidad Peto y de floración Dzidzilché, Jabin-Chaká) de las muestras con el mayor porcentaje de reducción en cuanto a su contenido de ARD. Sin embargo, El comportamiento de degradación de los azúcares en la muestra COL-CZMB (de la localidad Alta-Canzona y de floración Campanilla, Zio, Mararraton, Bara de humo) fue similar a su comportamiento en cuanto a su contenido de HMF (ver Figura 20). Con base a esto, esta muestra fue un claro ejemplo de que cuando los azúcares se degradan (principalmente los reductores) la concentración de HMF aumenta, así como lo establecen autores como Da Silva et al. (2015) y Van Putten et al. (2013).

Con respecto al caso de comportamiento del contenido de ARD de la muestra anterior, existe la posibilidad de adulteración de la miel puesto que su contenido de ARD en el inicio de la prueba fue alto (85.50 %) y su degradación de azúcares , así como su aumento de producción del contenido de HMF ocurrieron de forma rápida en solo seis semanas de almacenamiento a temperatura ambiente, por lo que de acuerdo con Mohtar et al. (2011) la adulteración en las mieles también es de los principales problemas que conllevan a la formación de HMF por medio de la degradación de azúcares. De acuerdo con Dini y García (2022) la adulteración es una de las principales prácticas que utilizan en la apicultura para aumentar la producción de miel, con productos que contienen características parecidas a la miel y que son de bajo costo. Algunos de esos productos son los jarabes invertidos, los jarabes de alta fructosa, los jarabes derivados de la hidrólisis del almidón, entre otros. Es muy probable que la muestra COL-CZ (de la localidad Baja-el salado y de floración Chico, Zarza) también haya sufrido una posible adulteración debido a su comportamiento algo parecido al de la muestra mencionada anteriormente.

Otro caso particular de comportamiento ARD y HMF fue el que presentó la muestra POTI-TX (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-Xtabentun) puesto que en cuanto a su contenido de ARD se redujo hasta en un 33 % desde su concentración inicial (77.60 %) con la cual se posicionó como una de las muestras con el contenido más alto de ARD, hasta su concentración final (52.10 %) en dónde tomo el papel de la muestra con el menor contenido de ARD, un valor muy bajo que con base a su contenido de ARD esta muestra no podría considerarse de calidad.

Con base a su comportamiento de HMF, obtuvo un incremento de 104 % desde su concentración inicial (0.47 ± 0.06 mg/100 g) hasta su concentración final (0.96 ± 0.02 mg/100 g), en dónde durante todo su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente se posicionó como una de las muestras con la menor concentración de HMF, por lo que de acuerdo con el contenido de HMF, podría considerarse como una miel fresca y de calidad. Sin embargo, se sabe que no podría ser así, debido a que presenta una anomalía con respecto a su contenido de ARD.

De acuerdo con los comportamientos de ARD y HMF en esta muestra, según la lógica de la teoría “la degradación de azúcares conlleva a la producción de HMF”, en el caso de POTI-TX TX (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-xtabentun), este suceso no se observó, pues si hubiese ocurrido así, la última concentración de HMF estaría entre las mieles con las concentraciones más altas de HMF, y esto no fue así.

En toda la información recopilada para este trabajo, se menciona que el HMF es un compuesto que se forma por medio de la deshidratación de las hexosas (fructosa y glucosa) también conocidos como ARD y se beneficia por varios factores como el tiempo de almacenamiento, la temperatura, las condiciones de almacenamiento, la manipulación de la miel, la composición química de la miel, etc., pero ningún autor menciona la posibilidad de producción de HMF por medio del proceso de fermentación. Por lo que, se consideró la fermentación de esta muestra, por las razones que se mencionan a continuación:

La fermentación es una de las principales alteraciones que ocurren en la miel debido a la carga microbiana de la muestra producida principalmente por la abeja durante el proceso de elaboración. En dicho fenómeno, los azúcares son convertidos en alcoholes y ácidos orgánicos, durante el proceso se libera alcohol etílico lo que provoca ciertas características en la miel, como la opacidad de la muestra, la pérdida del sabor azucarado, la presencia de dióxido de carbono (CO₂) y en casos extremos la formación de ácido acético que le otorga un olor característico (Pérez y Jimeno, 1985).

Según algunos autores, la fermentación depende de factores como el contenido de humedad, las mieles con un contenido alto de humedad (>18 %) tienen mayores probabilidades de fermentar (Almeida-Muradian-2020), la temperatura de almacenamiento es otro factor que provoca este fenómeno, sobre todo en las muestras almacenadas a temperaturas superiores de 15 °C (Pérez y Jimeno, 1985).



Figura 25. Muestra No. 11 POTI-TX

Con base a lo anteriormente mencionado, es muy posible que la muestra POTI-TX (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-Xtabentun) haya estado en el proceso de fermentación debido a que presentó un olor extraño no característico de la miel, la temperatura de almacenamiento fue superior a los 15 °C (28.7 °C) y posiblemente por su contenido de humedad (15.693 ± 0.49 %, obtenido por otro analista antes de iniciar esta prueba) el cual resultó ser de los más altos en las mieles analizadas, y el cuál pudo aumentar debido a la capacidad higroscópica de la miel, sobre todo en el proceso de extracción y almacenamiento que es en dónde absorbe la humedad del medio ambiente (Suescún y Vit, 2008). Además, la muestra que no se incluyó en este estudio debido a que se encontraba fermentada POTI-TZ (de floración Tzalam) proviene de la misma localidad que la muestra anterior (Popolnah, Tizimín) y fue cosechada por el mismo apicultor, lo cual nos indica la posibilidad de un mal manejo de la muestra durante su proceso de cosecha.

Otra característica que podría asegurar una posible alteración en la muestra POTI-TX (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-xtabentun) fue la coloración que esta muestra presentaba durante los análisis de HMF en el momento de añadir las soluciones Carrez (Carrez I y II) a la disolución de la miel, dicha coloración se tornaba entre una tonalidad verde y azul, completamente distinta al resto de las muestras que mostraban coloraciones entre amarillo claro y color crema. Aunque también es muy posible que esa coloración se deba al origen floral de la muestra, ya que era la única muestra que contenía floración Xtabentun.



Figura 26. Disolución de la muestra POTI-TX en estado reposo después de la adición de soluciones Carrez.

Debido a los sucesos mostrados en la muestra POTI-TX (de la localidad Popolnah, Tizimín y de floración Tahonal-xtabentun), esta muestra se descartó al momento de realizar la correlación entre el incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD, debido a que la degradación de azúcares no tuvo un gran significado en el aumento de HMF.

9.5 Correlación entre el incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD de las muestras de miel analizadas.

Para comprobar la hipótesis establecida en este trabajo: “Las muestras de miel (*Apis mellifera*) procedentes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia aumentan su concentración en contenido de hidroximetilfurfural (HMF) cuando existe una degradación de los azúcares reductores (principalmente fructosa) y se ve beneficiada por factores como la temperatura y el tiempo de almacenamiento” se realizó una correlación general entre el incremento (%) de HMF que presentó cada muestra de miel durante su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente y el porcentaje (%) reducido de ARD que mostró cada muestra de miel en su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente.

Los datos del incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido ARD de cada muestra de miel analizada (Tabla K-1) se encuentran disponibles en el ANEXO K de este documento. Los valores del % reducido de ARD fueron introducidos como valores negativos, con el fin de comprobar la teoría de la hipótesis.

El coeficiente de correlación fue de -0.93 lo cual indicó una correlación negativa casi perfecta por su cercanía con el -1. Una correlación negativa nos indica que cuando una variable tiende a crecer, la otra disminuye, esto se puede observar en la figura que se muestra a continuación (Figura 27) la cual presentó

una $R^2 = 0.8603$, lo que quiere decir que hubo un buen ajuste de los resultados, puesto que el valor de R^2 fue muy cercano a 1.

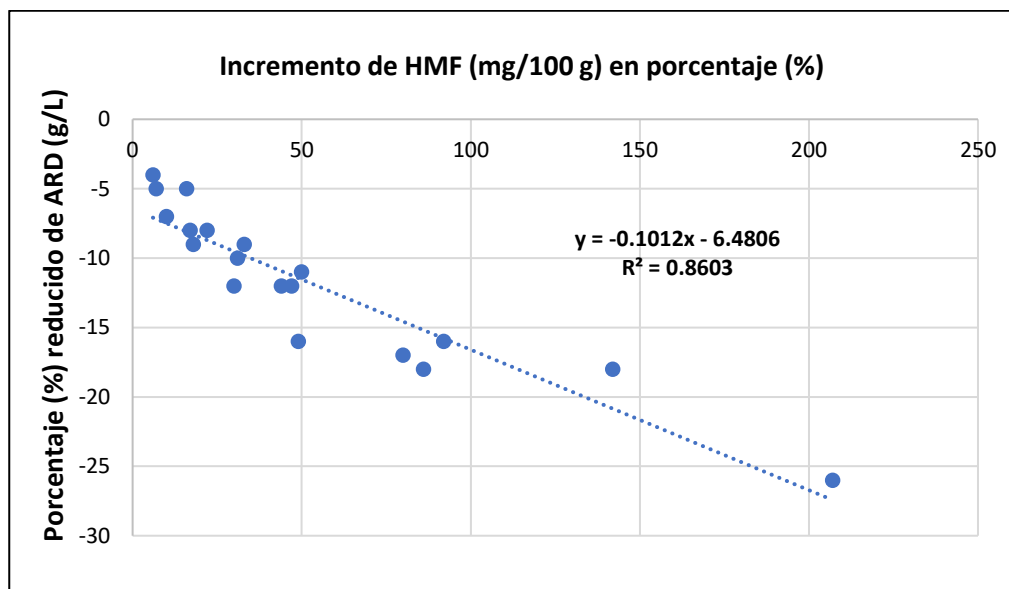


Figura 27. Correlación del incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD de las muestras de miel analizadas durante esta prueba.

Con respecto a la figura anterior se observó el comportamiento de los dos parámetros puesto que cuando los azúcares reductores se degradaban el contenido de hidroximetilfurfural aumentaba, estos dos sucesos ocurrieron de manera simultánea en las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas y ambos fenómenos se relacionaron con el tiempo de almacenamiento y la temperatura de almacenamiento de las muestras, puesto que en las secciones anteriores de este capítulo se mostró como en el caso del contenido de HMF aumenta conforme avanza el tiempo de almacenamiento (Figura 20), mientras que en el caso del contenido de ARD su concentración disminuyó con el avance del tiempo de almacenamiento (Figura 24).

Para comprobar de mejor manera la teoría de la hipótesis se realizaron dos correlaciones del incremento (%) de HMF y porcentaje (%) reducido de ARD: una fue para la muestra que se mantuvo más estable durante la prueba, es decir, la muestra que presentó el menor incremento (%) de HMF y el menor porcentaje (%) reducido de ARD, dicha muestra resultó ser PE-TAVESOL (de la localidad Peto y de floración Tahonal, Vejucó, Solen, AK.); la otra correlación fue para la muestra que presentó una menor estabilidad, es decir, aquella muestra que mostró el mayor incremento (%) de HMF, así como el mayor porcentaje (%) reducido de ARD, dicha muestra resultó ser PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin). Los valores de los incrementos (%) de HMF y del porcentaje (%) reducido de ARD de las muestras mencionadas anteriormente (Tabla K-2 y Tabla K-3) se pueden apreciar en el ANEXO K.

El coeficiente de correlación de ambas fue no tan distante del valor -1, en el caso de la muestra PE-TAVESOL (de la localidad Peto y de floración Tahonal, Vejuco, Solen, AK.) el resultado fue de -0.86 y para la muestra PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin) fue de -0.85.

Los valores de las Tablas K-2 y K-3 fueron graficados en las figuras que aparecen a continuación (Figura 28 y Figura 29). La Figura 28 presentó una $R^2 = 0.7413$, mientras que en la Figura 29 se mostró una $R^2 = 0.7187$, lo cual nos indicó que el ajuste no fue muy bueno, pero es aceptable puesto que no fue muy distante del valor 1.

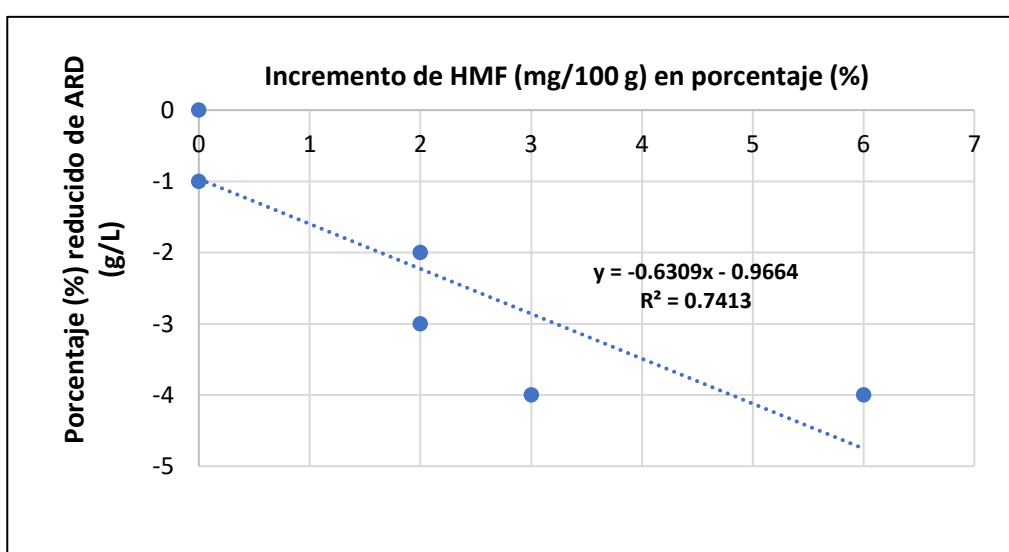


Figura 28. Correlación del incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD que presentó la muestra PE-TAVESOL (de la localidad Peto y de floración Tahonal, Vejuco, Solen, AK.)

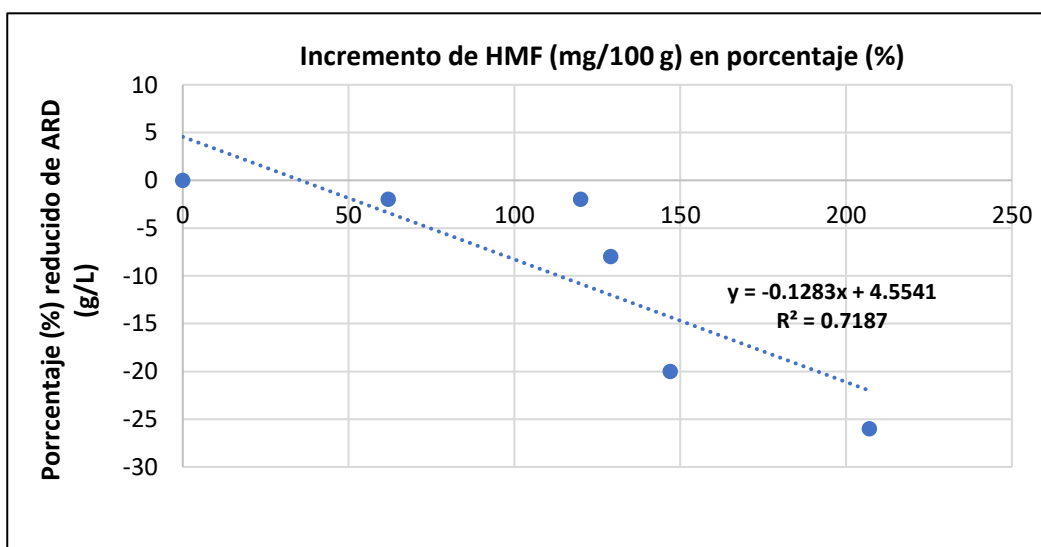


Figura 29. Correlación del incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD que presentó la muestra PE-CHAJA (de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin).

En ambos casos (Figura 28 y Figura 29) se observó el mismo comportamiento; sin embargo, en la Figura 28 (PE-TAVESOL de la localidad Peto y de floración Tahonal, Vejucu, Solen, AK.) el comportamiento de HMF y ARD fue un poco más preciso que en el de la Figura 29 (PE-CHAJA de la localidad Peto y de floración Chaká-Jabin).

Otro caso en dónde se pudo comprobar este comportamiento fue en la muestra COL-DP (de San Jacinto Bolívar y de la marca “Del panal”) y en las muestras de la comunidad Tahdziu: TAH-BM (de floración Box-Muk), TAH-DZ (de floración Dzidzilché) y TAH-JA (de floración Jabin); las cuales fueron las muestras con el contenido más alto de ARD después de su tiempo de almacenamiento (ocho semanas) a temperatura ambiente.

La figura que aparece a continuación (Figura 30) muestra la correlación entre el incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD de las muestras de miel descritas anteriormente. Los valores de los incrementos (%) de HMF y del porcentaje (%) reducido de ARD de las muestras mencionadas (Tabla K-4 a Tabla K-7) se pueden observar en el ANEXO K.

El coeficiente de correlación de fue muy bueno para todas, puesto que los valores se mantuvieron cercanos a -1. Los valores fueron de -0.95, -0.93, -0.86 y -0.98 para TAH-BM (de la localidad Tahdziu y de floración Box-Muk), TAH-DZ (de la localidad Tahdziu y de floración Dzidzilché), TAH-JA (de la localidad Tahdziu y de floración Jabin) y COL-DP (de San Jacinto Bolívar y de la marca “Del panal”), respectivamente.

Los resultados de las Tablas K-4 a la K-7 fueron graficados en la Figura 30 en dónde se muestra una buena correlación entre el incremento (%) HMF de las muestras y su porcentaje (%) reducido ARD. El ajuste de R^2 fue aceptable para las muestras puesto que sus valores se mantuvieron cercanos a 1. Los resultados reportados de R^2 fueron de 0.9057, 0.8668, 0.7394, 0.9664 para TAH-BM (de la localidad Tahdziu y de floración Box-Muk), TAH-DZ (de la localidad Tahdziu y de floración Dzidzilché), TAH-JA (de la localidad Tahdziu y de floración Jabin) y COL-DP (de San Jacinto Bolívar y de la marca “Del panal”), correlativamente.

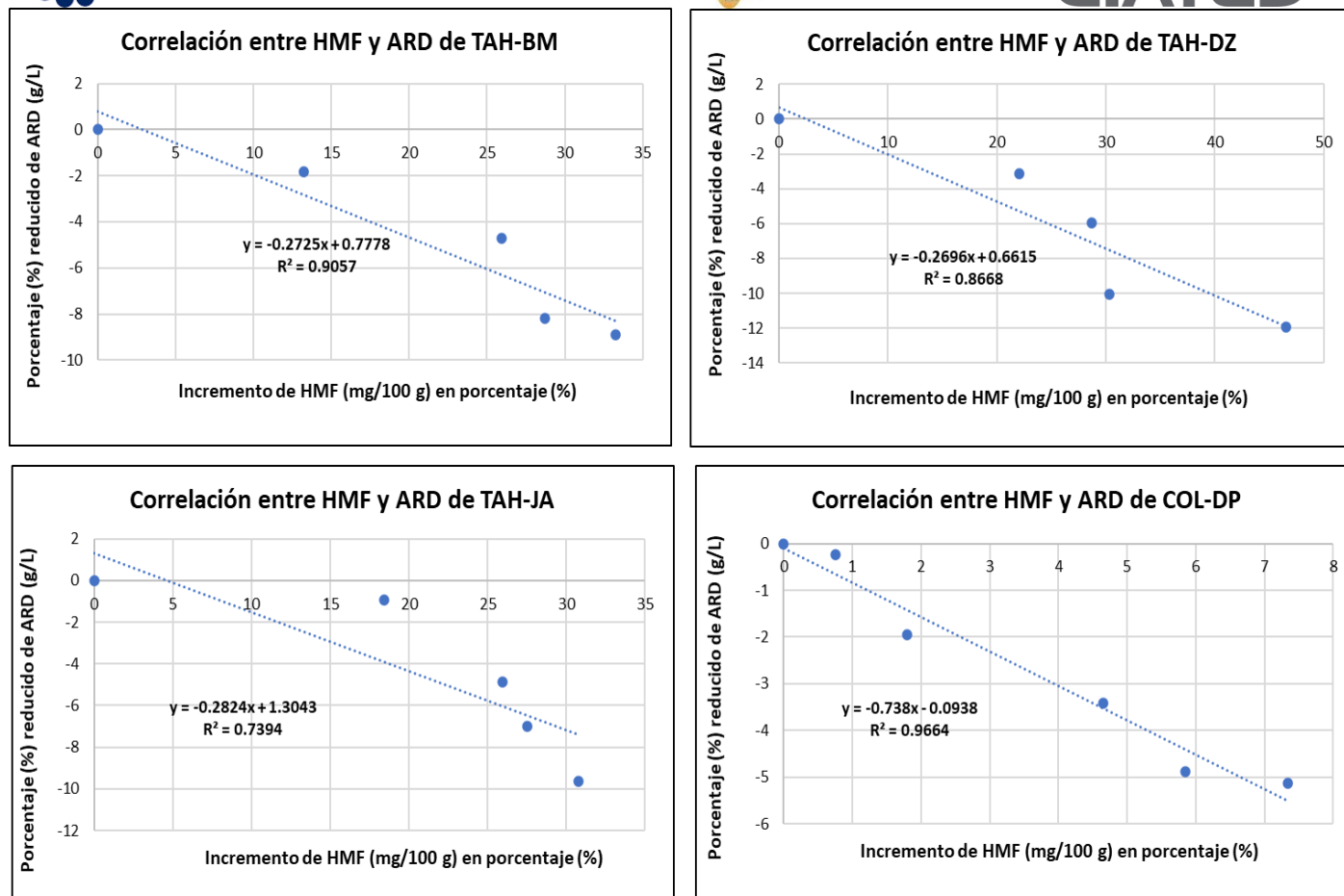


Figura 30. Correlación del incremento (%) de HMF y el porcentaje (%) reducido de ARD de las muestras de miel con el contenido más alto de ARD después de ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente

La Figura 30 muestra el mismo comportamiento que en las figuras anteriores (Figura 27, 28 y 29), por lo que se pudo comprobar una vez más la teoría planteada en la hipótesis. Sobre todo, en la muestra TAH-BM (de la localidad Tahdziu y de floración Box-Muk) y la muestra COL-DP (de San Jacinto Bolívar y de la marca “Del panal”) las cuales presentaron muy buena correlación entre HMF (Incremento %) y ARD (porcentaje (%)) reducido) con valores de R^2 de 0.9057 y 0.9664, correspondientemente.

Con respecto a las figuras anteriores (Figura 27, Figura 28, Figura 29 y Figura 30) se comprobó la teoría de la hipótesis mencionada por diversos autores, en la cual se establece que el hidroximetilfurfural (HMF) es un compuesto que aparece debido a la degradación de los azúcares reductores (principalmente fructosa) y se ve beneficiada por el tiempo de almacenamiento y las altas temperaturas (Da Silva et al., 2015, Fuentes et al., 2018 y Villar et al., 2015). Por lo cual, la hipótesis establecida en este trabajo de investigación es completamente aceptada.

X. Conclusiones y recomendaciones.

En conclusión, a nivel general las muestras de miel (*A. mellifera*) procedentes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia analizadas durante esta prueba podrían considerarse como mieles de calidad, puesto que cumplieron con los estándares establecidos por la legislación internacional, mexicana y colombiana con respecto a los parámetros fisicoquímicos evaluados en este trabajo (hidroximetilfurfural (HMF) y azúcares reductores (ARD)); puesto que con respecto al contenido de HMF, ninguna de las muestras de miel analizadas superaron el límite máximo permitido para mieles de zona tropical (8 mg/100 g) durante su tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente; y en cuanto al contenido de azúcares reductores (ARD) solo un 15 % de las muestras no cumplió con el límite mínimo establecido por la normatividad, del 60 % (60 g/100 g) en un periodo de ocho semanas de almacenamiento.

Para el contenido de HMF, la muestra COL-CZ fue la que reportó la menor concentración de HMF durante sus seis semanas de almacenamiento a temperatura ambiente; mientras que la muestra COL-DP fue la que presentó la mayor concentración de HMF durante sus ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente.

Para el contenido de ARD, la concentración más baja se mostró en la muestra POTI-TX durante sus ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente, sin embargo, fue descartada por presentar ciertas anomalías (una posible fermentación); por su parte, la muestra TAH-BM fue la que reportó la concentración más alta en sus ocho semanas de almacenamiento a temperatura ambiente.

El tiempo de almacenamiento fue un factor que influyó de forma directa en el comportamiento de HMF y ARD que reportó cada muestra de miel, puesto que conforme avanzaba el tiempo de almacenamiento el contenido de ARD disminuye, mientras que el contenido de HMF aumenta, ambos sucesos ocurren de manera simultánea y se ven beneficiados por la temperatura y condiciones de almacenamiento, y en ciertos casos también depende la edad de la miel y su composición química (pH, humedad, tipo de floración, entre otros).

Los incrementos de HMF para las mieles provenientes de Yucatán, México y Montes de María, Colombia posicionaron sus valores en un rango del 6 al 207 %, y en cuanto al porcentaje reducido de ARD los valores se posicionaron en un rango del 4 al 33 %. La muestra PE-TAVESOL fue considerada como la muestra más estable de todas, debido a que sus valores de incremento y reducción fueron bajos (se incrementó en un 6 % HMF y se redujo un 4 % ARD). Por otro lado, la muestra PE-CHAJA se consideró

como la muestra con menor estabilidad debido a sus altos valores reportados de incremento y reducción (se incrementó en un 207 % HMF y disminuyó en un 26 % ARD).

Con la correlación realizada entre el incremento de HMF y el porcentaje reducido de ARD se pudo comprobar que cuando los azúcares reductores (principalmente fructosa) se degradan el contenido de HMF aumenta (teoría planteada en la hipótesis).

El método espectrofotométrico de White (1979) es un método eficaz y efectivo para la evaluación de hidroximetilfurfural (HMF) en muestras de miel (*A. mellifera*) y se pudo comprobar con la prueba de precisión del método realizada en este trabajo de investigación, la cual mostró una buena precisión de los resultados y un mínimo margen de error. Las modificaciones aplicadas en el método (cambio de peso para obtener una absorbancia menor a 0.6) no afectaron los resultados obtenidos durante las evaluaciones, puesto que la ecuación de cuantificación utilizada está completamente diseñada para cambiar el peso de la muestra sin afectar el factor de conversión para expresar el resultado en mg de HMF/ 100 g de miel.

Los parámetros fisicoquímicos evaluados en esta prueba no son suficientes para considerar a una muestra de calidad, debido a la composición tan compleja que contiene una miel. Sin embargo, ante el mercado internacional el hidroximetilfurfural es un parámetro crítico importante a evaluar debido a los efectos negativos que provoca en la salud, por lo que las mieles analizadas en esta prueba cumplen con uno de los parámetros más importantes para considerarse como mieles de calidad. Además, con la evaluación del HMF se puede calcular la edad de la miel, si está sufrió de un posible tratamiento térmico y/o adulteración, así como de una incorrecta manipulación.

Los resultados de las muestras de Yucatán y Montes de María podrían mejorarse en gran medida si se cumplen con los requisitos y condiciones necesarias establecidas por la normatividad, así como la implementación de proyectos para la mejora de la actividad apícola en ambos países (México y Colombia), con el fin de obtener resultados considerables para la generación de un cierto valor agregado.

En el caso de las muestras de Yucatán, México, la mayoría de sus muestras reportaron concentraciones altas de HMF, con respecto a las de Montes de María, Colombia, aunque, por otro lado, todas las muestras se mantuvieron dentro del límite máximo permisible para mieles tropicales (8 mg/100 g). En cuanto al incremento, pocas fueron las muestras que reportaron altos incrementos de HMF, lo cual indicó el buen manejo y las condiciones que se manejan en la actividad apícola mexicana. Sin embargo, las altas concentraciones se deben principalmente al clima tropical, por lo que se recomienda un almacenamiento

a temperaturas inferiores de 20 °C, así como evitar el uso de tratamientos térmicos y extraer la miel por medio de succión durante cosecha.

Por su parte, las mieles de Montes de María, Colombia, la mayoría reportó concentraciones bajas de HMF considerándose como mieles frescas y de calidad, sin embargo, el incremento en la mayoría fue muy alto, tomando en cuenta que la mayoría fueron almacenadas solo durante seis semanas; por lo que se recomienda un excelente control de calidad durante todo el proceso de elaboración de la miel, tomando muy en serio factores como humedad relativa, temperatura ambiente y condiciones de almacenamiento.

XI. Referencias bibliográficas.

- Abril, N., Bárcena, J.A., Fernández, E., Galván, A., Jorrín, J., Peinado, J., Meléndez, F.T., Túnez, I. (2020). 8. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. Campus Universitario de Rabanales, Facultad de Medicina. Studocu. Disponible en: <https://www.studocu.com/pe/document/universidad-nacional-de-san-martin-peru/auditoria-fiananciera/08-espectrofotometria/4345879>
- Almeida-Muradian, L.B., Stramm, K.M., Horita, A., Barth, O.M., Da Silva, A., Estevinho, L.M. (2013). Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. *International Journal of Food Science and Technology*, N° 48, 1698-1706, 2013. <https://doi.org/10.1111/IJFS.12140>
- Almeida-Muradian, L.B., Barth, O.M., Dietemann, V., Eyer, M., Da Silva, A., Martel, A., Marcazzan, G.L., Marchese, C.M., Mucignat-Caretta, C., Pascual-Maté, A., Reybroeck, W., Sancho, M.T., Gasparotto, J.A. (2020). Standard methods for *Apis mellifera* honey research. *Journal of Apicultural Research*, ISSN: 0021-8839, Vol. 59, N° 3, 1-62, 2020. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1738135>
- Archilia, M.D., Neto, A.A.L., Marcucci, M.C., Alonso, R.C.B., de Camargo, T.C., Camargo, R.C., Sawaya, A.C.H.F. (2021). Characterization of Brazilian monofloral and polyfloral honey by UHPLC-MS and classic physical-chemical analyses. *Journal of Apicultural Research*, 1-12, 2021. <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1886747>
- Arias, S. y López, D.M. (2019). Reacciones químicas de los azúcares simples empleados en la industria alimentaria. *Lámpsakos* N° 22, 123- 136, 2019. <https://doi.org/10.21501/21454086.3252>
- Arriols, E. (06 de agosto de 2018). Qué es el clima tropical y sus características. Ecología verde. Disponible en: <https://www.ecologiaverde.com/que-es-el-clima-tropical-y-sus-caracteristicas-1434.html>
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2023). Disponible en: <https://www.aoac.org/>
- Ávila, R., Rivas, B., Hernández, R., Chirinos, M. (2012). Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en *Agave cocui* Trelease. *Multiciencias*, Vol. 12, N° 2, 129 -135, 2012. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90424216002>

- Bradbear, N. (2005). La apicultura y los medios de vida sostenibles. Folleto de la FAO sobre diversificación 1. Dirección de Sistemas de Apoyo a la Agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Roma, 2005. Disponible en: https://books.google.com.mx/books?id=NivDD6v25E0C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=true
- Chan, J.R., Caamal, I., Pat, V.G., Martínez, D., Pérez, A. (2018). Textual: análisis del medio rural latinoamericano. Caracterización social y económica de la producción de miel de abeja en el norte del Estado de Campeche, México. *Economía y Políticas Públicas*, ISSN: 2395-9177, 2018. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2395-91772018000200103
- Chávez, M.D.C. (2010). Caracterización de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de la miel de abeja (*Apis mellifera*) del Estado de Veracruz y su cambio durante el almacenamiento. Repositorio Institucional. Disponible en: <http://cdigital.uv.mx/handle/1944/51312>
- d'Almeida, J., Martins, E., Fonseca, P.H., Schuck, P., Tuler, Í., Fernandes, A. (2017). Reação de maillard: uma revisão. *Revista do Institute de Lacticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora*, ISSN: 2238 – 6416, Vol. 72, N° 1, 48 – 57, 2017. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v72i1.541>
- Da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Oliveira, A.C., Fett, R. (2015). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, Vol. 196, 2015 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Da silva, P.M., Gonzaga, L.V., Biluca, F.C., Schulz, M., Vitali, L., Amadeu, G., Oliveira, A.C., Fett, R. (2020). Stability of Brazilian *Apis mellifera* L. honey during prolonged storage: Physicochemical parameters and bioactive compounds. *LWT-Food Science and Technology*, Vol. 129, 1-10, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109521>
- De Castro, M.N., Santos, J.L., De Castro, É., Rocha, W.S., Fernández, L. (2017). Quality evaluation of bee honeys produced and marketed in Vitória da Conquista, Bahia, Brazil. *Green Journal of Agroecology and Sustainable Development*, Vol. 12, N° 4, 783-790, 2017. <https://doi.org/10.18378/rvads.v12i4.4881>

Diario Oficial de la Federación (DOF). (29 de abril de 2020). Norma Oficial Mexicana NOM-004-SAG/GAN-2018, producción de miel y especificaciones. Disponible en:

https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5592435&fecha=29/04/2020#gsc.tab=0

Díaz, F.A.C., Colqui, R.A., Méndez, M.V., Roza, V.F. (2021). Evaluación del contenido de compuestos fenólicos totales e hidroximetilfurfural de diferentes mieles de la provincia de Jujuy. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Agrarias*, Vol. 14, N° 1, 60 – 68, 2021. Disponible en:

<https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/157864>

Díaz, A.C. (2009). Influencia de las condiciones de almacenamiento sobre la calidad físico-química y biológica de la miel. Universidad de Zaragoza (Facultad de veterinaria). Disponible en:

<https://zaguan.unizar.es/record/2052/files/TESIS-2009-036.pdf>

Dini, C.B. y García, N. (2022). Manual de Buenas Prácticas en Alimentación de Abejas. Un aporte a la calidad de la miel argentina. *Inta Digital (Repositorio Institucional Biblioteca Digital)*, ISBN: 978-987-88-5180-8. <http://hdl.handle.net/20.500.12123/12627>

Eslava, J.A. (1993). Climatología y diversidad climática de Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.*, ISSN: 0370-3908, Vol. 18, N° 71, 507 – 538, 1993. Disponible en:

https://accefyn.com/revista/Volumen_18/71/508-538.pdf

Eurachem (2016). La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos, Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. 1ª ed. Española, 2016. Disponible en:

https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf

Fuentes, A., Fernández, I., Fuentes, C. (2018). Determinación de hidroximetilfurfural (HMF) en café mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Universidad Politécnica de Valencia. <http://hdl.handle.net/10251/104053>

Fundación Museo Bolivariano. (02 de julio de 2020). Abea-apis-mellifera. Disponible en:

<https://www.museobolivariano.org.co/abejas-apis-mellifera/abea-apis-mellifera/>

García, R.D. (2018). Instrumentos que revolucionaron la química: la historia del espectrofotómetro. *Avances en Química*, 13 (3): 79-82, 2018. Disponible en:

https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/87008/CONICET_Digital_Nro.14279992-2fa1-48b5-93d6-7674ea150cf9_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

Gomara, F.L., Correr, C.J., Sato M.E.O., Pontarolo, R. (2004). Desarrollo y validación de un método espectrofotométrico para cuantificación de ácido kójico. *Ars. Pharm*, 45 (2): 145-153, 2004.

Disponible en: <https://www.ugr.es/~ars/abstract/vol45/145-153.pdf>

Gómez, A.H. (2020). La reacción de Maillard y su impacto en la salud. Universidad de Sevilla. Facultad de farmacia. Departamento de química orgánica y farmacéutica. Disponible en: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/104077/GOMEZ%20VAZQUEZ%20ANGEL%20HIPOLITO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Hammond, G. y Blankenship, M. (2009). *Apis mellifera* miel de abeja. Animal Diversity Web (ADW). Disponible en: https://animaldiversity.org/accounts/Apis_mellifera/

Hernández, C.D. (2013). Montes de María. Crímenes de lesa humanidad. *Via Inveniendi Et Ludicandi*, Vol. 8, N° 2, Universidad de Santo Tomás en Bogotá, Colombia (2013). Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/5602/560258674009.pdf>

Hurtado, A., Caldera, A., Milano, B., Ibarra, C., Díaz, A., Camacho, J., Villamizar, E., Verde, O. (2017). Notas técnicas: análisis de datos bajo condiciones de repetibilidad. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, ISSN: 0798-0264, Vol. 36, N° 2, 2017. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/559/55950804002.pdf>

Instituto Adolfo Lutz. (2008). Métodos físico-químicos para análisis de alimentos São Paulo: Autor. http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf

Instituto Colombiano de Normas Técnicas (ICONTEC). (2007). Norma Técnica Colombiana (NTC-1273). Miel de abejas. Disponible en: <https://idoc.pub/documents/ntc-1273-miel-de-abejas-6nge1km8yjlz>

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2022). Geografía y Medio Ambiente. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/temas/>

Instituto Nacional de la Economía Social (INAES). (26 de mayo de 2018). Historia e importancia de la apicultura. Historia de la apicultura en México y el mundo. Disponible en: <https://www.gob.mx/inaes/articulos/historia-e-importancia-de-la-apicultura?idiom=es>

- International Honey Commission (IHC). (2009). Harmonised methods of the International Honey Commission. World Network of Honey Science. Disponible en: <https://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>
- International Organization for Standardization (ISO). (1994). Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. *International Standard ISO 5725-1: 1994*. Disponible en: <https://cdn.standards.iteh.ai/samples/11833/8de819bed35d4184ade1ab2f1c477489/ISO-5725-1-1994.pdf>
- International Organization for Standardization (ISO). (2015). Sistemas de gestión de la calidad – Fundamentos y vocabulario. *Norma Internacional ISO 9000: 2015*. Disponible en: https://dai.uas.edu.mx/pdfs/NORMA_ISO_9000-2015_FyV.pdf
- Lazos, R.J. y Hernández, I. (2004). La validación de métodos: un enfoque práctico. *Simposio de metrología*, 2022. Disponible en: <https://www.cenam.mx/simposio2004/memorias/TA-090.pdf>
- Lemos, M.S., Venturieri, G.C., Dantas, H.A., Dantas, K.G.F. (2017). Evaluation of the physicochemical parameters and inorganic constituents of honeys from de Amazon region. *Journal of Apicultural Research*, ISSN: 2078-6913, Vol. 57, N° 1, 135-144, 2017. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1338120>
- Lifeder (3 de julio de 2020). Clima de Yucatán: características principales. Disponible en: <https://www.lifeder.com/clima-yucatan/>
- Llorente, J. (19 de febrero de 2015). Productos de la apicultura: la miel. Fundación Amigos de las Abejas. Disponible en: <https://abejas.org/productos-de-la-apicultura-la-miel/>
- Machado De-Melo, A.A., Almeida-Muradian, L.B., Sancho, M.T., Pascual-Maté, A. (2017). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, ISSN: 2078-6913, Vol. 57, N° 1, 5-37, 2017. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1338444>
- Magaña, M.A., Sanginés, J.R., Lara, P.E., Salazar, L., Leyva, C.E. (2017). Competitividad y participación de la miel mexicana en el mercado mundial. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, Vol. 8, N° 1, 43-52, 2017. <https://doi.org/10.22319/RMCP.V8I1.4304>

- Martínez, J.J. (2014). Libro electrónico de bioquímica. Universidad Autónoma de Aguascalientes. *Difusión General de Difusión y Vinculación*, ISBN: 978-607-8359-26-4, 2014. Disponible en: <http://libroelectronico.uaa.mx/>
- Martínez, J.T. (2020). Caracterización palinológica de los recursos florales utilizados por *Apis mellifera* (Apidae) en la región de Los Valles, Durango, México. Repositorio Dspace. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/28345>
- Martínez, R.A. (2013). Influencia del almacenamiento de miel de Yateí sobre las propiedades antimicrobianas y parámetros de calidad. Repositorio Institucional Digital de la Universidad Nacional de Misiones. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12219/2783>
- Marques, A., Gonçalves, S., Dourado, A.M., Cardoso, F.D.C., Barbosa, A.W., Sanches, M.C. (2020). Blends of bee honey (*Apis mellifera* L.) and its shelf life due to the proportion of hydroxymethylfurfural. *Research, Society and Development*, ISSN: 2525-3409, Vol. 9, N° 12, 1-12, 2020. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i12.10740>
- Mejía, W. y Serrano, J. (2011). Obtención del 5-hidroximetilfurfural a partir de la fructosa. Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Ingeniería Química. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2405>
- Miller, G.L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, Vol. 31, No. 3, 426 – 428, 1959. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (Minagricultura-MA). (2006). Diagnóstico de la actividad apícola y de la crianza de abejas en Colombia. Dirección de Cadenas Productivas e Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Disponible en: <https://sites.google.com/site/cpaaabejascolombia/Inicio> (Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura (CPAA), Sector Apícola en Colombia).
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (Minagricultura-MA). (2018). Cifras sectoriales 2018. Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura (CPAA). Disponible en: <https://sites.google.com/site/cpaaabejascolombia/Inicio> (Sector Apícola en Colombia).
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (Minagricultura-MA). (2018). Informe Sectorial. Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura (CPAA). Disponible en: <https://sites.google.com/site/cpaaabejascolombia/Inicio> (Sector Apícola en Colombia).

- Moguel, Y.B., Echazarreta, C., Mora, R. (2005). Calidad fisicoquímica de la miel de abeja *Apis mellifera* producida en el estado de Yucatán durante diferentes etapas del proceso de producción y tipos de floración. *Técnica Pecuaria en México*, Vol. 43, ISSN: 0040-1889, No. 3, 2005. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61343303>
- Mohtar, L., Hernández, N., Maidana, J., Leal, I., Yegres, F. (2011). Evaluación de la calidad de las mieles expendidas en Coro, estado Falcón, Venezuela. *Multiciencias*, ISSN: 1317-2255, Vol. 11, N° 3, 225-234, 2011. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90421736002>
- Muñoz, A.G. y Vega, J.A. (2014). Determinación de azúcares reductores por espectrofotometría (método DNS). Universidad Nacional del Santa, Perú. Disponible en: <https://es.slideshare.net/vegabner/determinacin-de-azcares-reductores-por-espectrofotometra-mtodo-dns>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2021). Las buenas prácticas en apicultura. Tecnologías y Prácticas para Pequeños Productores Agropecuarios (TECA). Disponible en: <https://www.fao.org/teca/en/technologies/8675>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO–FAOSTAT). (2023). Compare Data. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/en/#compare>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y Organización Mundial de la Salud (OMS). (2023). CODEX ALIMENTARIUS (Normas Internacionales de los Alimentos). Standard for honey (CXS-12-1981, revisada en 1987, 2001 y enmendada en 2019). Disponible en: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/search/es/>
- Osorio, C. (noviembre de 2020). Antecedentes históricos de la apicultura. IDOCPUB. Disponible en: <https://idoc.pub/documents/antecedentes-historicos-de-la-apicultura-d47e1vx987n2>
- Osorio, J.C., Vega, O., Contreras, J., Gómez, F., Agudelo, C. (2018). Reacción de Maillard en productos lácteos. Estudios Interdisciplinarios de Investigación en Ingeniería. Coruniamericana de la Corporación Universitaria Americana, 2018. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/333405648_REACCION_DE_MAILLARD_EN_PRODUCTOS_LACTEOS

- Paseiro, P. y Simal, J. (1984). Contribución a la determinación espectrofotométrica de cafeína en cafés. *Anal. Bromatol. Revista XXXVI*, 1, 97-108, 1984. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/235698304_Contribucion_a_la_determinacion_espectrofotometrica_de_cafeina_en_cafes
- Pérez, C. y Jimeno, M.F. (1985). Manejo y alteraciones de la miel. *Hojas Divulgadoras/ Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación*, ISBN: 8434105004, N° 13/85, 1985. Disponible en: https://books.google.com.mx/books/about/Manejo_y_alteraciones_de_la_miel.html?id=sqdBA-AAACAAJ&redir_esc=y
- Ramírez, K.T., Palacios M.I., Ocampo, J.G., Aguilar, J. (2022). Desarrollo Rural y Cuestión Agraria en América Latina: Análisis del contexto internacional del mercado de la miel. Asociación Latinoamericana de Sociología. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/358991131_DESARROLLO_RURAL_Y_CUESTION_AGRARIA_EN_AMERICA_LATINA_Analisis_del_contexto_internacional_del_mercado_de_la_miel
- Ruiz, M., Ramírez, M.C., Antolín, G. (2011). Efecto del hidroximetilfurfural sobre el crecimiento de hongos en pan de molde. *Ciencias Agronómicas (Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNR)*, Revista XVIII, 2011. Disponible en: <https://test-cienciasagronomicas.unr.edu.ar/journal/index.php/agronom/article/view/19/24>
- Saraiva, M.A., Nunes, G.S., Rosa, I.G., Silva, J.M., Peixoto, C.R., Holanda, C.A. (2013). Estado de deterioro de la miel de abeja (*Apis mellifera*) se comercialicen en Sao Luis Do Maranhão. *Cad. Pesq.*, Vol. 20, N° 1, 64-68, 2013. <https://doi.org/10.18764/2178-2229.v20.n1.p.64-68>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (21 de junio de 2015). ¿Qué es la apicultura? Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/que-es-la-apicultura>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (01 de marzo de 2020). Produjo México 61.9 mil toneladas de miel en 2019, que representa 6.1 por ciento más que el promedio de los últimos 10 años. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/produjo-mexico-61-9-mil-toneladas-de-miel-en-2019-que-representa-6-1-por-cienprodujo-mexico-61-9-mil-toneladas-de-miel-en-2019-que-representa-6-1-por-ciento-mas-que-el-promedio-de-los-ultimos-10-anos-to-mas-que-el-promedio-de-los-ultimos-10-anos?idiom=es>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (20 de mayo de 2020). La apicultura en México.

Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-apicultura-en-mexico?idiom=es>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (03 de febrero de 2022). Crece producción y exportación de miel en México al cierre de 2021. Agricultura. Disponible en:

<https://www.gob.mx/agricultura/tabasco/articulos/crece-produccion-y-exportacion-de-miel-en-mexico-al-cierre-de-2021?idiom=es>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (10 de agosto de 2022). La miel, dulce riqueza ancestral. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-miel-dulce-riqueza-ancestral?idiom=es>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (10 de agosto de 2022). Prevé agricultura producción de 65 mil 600 toneladas de miel este año, con exportaciones a 33 países. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/preve-agricultura-produccion-de-65-mil-600-toneladas-de-miel-este-ano-con-exportaciones-a-33-paises>

Secretaría de Salud. (20 de agosto de 2015). Normas Oficiales Mexicanas. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/en/documentos/normas-oficiales-mexicanas-9705>

Shapla, U.M., Solayman, Md., Alam, N., Khalil, Md. I., Gan, S.H. (2018). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal*, Vol. 12, N° 35, 2018. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0408-3>

Solares, C.K. (2013). Estudio comparativo de los niveles de sacarosa y azúcares reductores (glucosa + fructosa) de la miel de abeja (*Apis mellifera*). Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1369.pdf

Stewart, D. (20 de noviembre de 2021). Precisión y exactitud de los métodos analíticos. eHow En Español. Disponible en: https://www.ehowenespanol.com/precision-exactitud-metodos-analiticos-info_269588/

Suescún, L. y Vit, P. (2008). Control de calidad de la miel de abejas producida como propuesta para un proyecto de servicio comunitario obligatorio. Universidad de los Andes, Venezuela. *Fuerza Farmacéutica* Año 12, Vol. 1, 2008. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/265198751_Control_de_calidad_de_la_miel_de_abejas_producida_como_propuesta_para_un_proyecto_de_servicio_comunitario_obligatorio

- Tun, E. (2014). Evaluación de un método espectrofotométrico diseñado para la cuantificación de glucosa, fructosa y sacarosa en mieles utilizadas para la producción de alcohol etílico, como alternativa de sustitución de un método por cromatografía líquida de alta resolución. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/1641/1/22Tg%28499%29Ali%20EDUARDO%20TUN%20VELASQUEZ.pdf>
- Uch-Samos, E.M., Interían-Ku, V.M., Cázares, E., Sánchez, P.S., Casanova, V.E., González, F.J. (2019). Propóleo y miel de *Apis mellifera*, complemento nutricional para la producción de plántulas de chile habanero. *Investigación y Ciencia*, ISSN: 1665-4412, Vol. 27, N° 78, 34-43, 2019. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/674/67461252004/>
- Ulloa, J.A., Mondragón, P.M., Rodríguez, R., Reséndiz, J.A., Rosas, P. (2010). La miel de abeja y su importancia. *Revista Fuente Año 2*, ISSN: 2007-0713, N° 4, 2010. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/299821229_La_miel_de_abeja_y_su_importancia
- Uran, H., Aksu, F.Y., Dülger, D. (2017). A research on the chemical and microbiological qualities of honeys sold in Istanbul. *Food Science and Technology: Campinas*, ISSN 0101-2061, 37 (Suppl. 1): 30-33, 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457x.32016>
- Urrego, J.F. (2017). Caracterización de mieles de abeja *Apis mellifera*, colectadas de diferentes regiones de Antioquia, de acuerdo con los parámetros establecidos por la legislación colombiana y demás criterios que contribuyen a la calidad. Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/59936/98626855.2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Van Putten, R-J., van der Waal, J.C., de Jong, E., Rasrendra, C.B., Heeres, H.J., de Vries, J.G. (2013). Hydroxymethylfurfural, A Versatile Platform Chemical Made from Renewable Resources. *Chemical Reviews*, 113 (3), 1499 – 1597, 2013. <https://doi.org/10.1021/cr300182k>
- Velásquez, D. y Goetschel, M.L. (2019). Determinación de la calidad físico-química de la miel de abeja comercializada en Quito y comparación con la miel artificial. *Enfoque UTE, Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias*, ISSN-e: 1390-6542, Vol. 10, N° 2, 52-62, 2019. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8283798>

- Villanueva, N.I. (2017). Obtención de 5-hidroximetilfurfural a partir de glucosa proveniente de licores de corteza de pino y eucalipto, utilizando catalizadores sólidos en medio acuoso. Facultad de Ingeniería, Universidad de Concepción, Chile. Disponible en: http://repositorio.udec.cl/jspui/bitstream/11594/2802/3/Tesis_Obtencion_de_5_hidroxmetilfurfural.pdf
- Villar, M., Villar, M.P., Cobo, S., Rodríguez, M.D., Serrano, M. (2015). Determinación de hidroximetilfurfural como parámetro indicador de la calidad de las mismas. *MoleQla: revista de Ciencias de la Universidad de Pablo Olavide*, ISSN-e 2173-0903, N° 18, 2015. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5122454>
- Visquert Fas, M. (2015). Influencia de las condiciones térmicas en la calidad de la miel. Universidad Politécnica de Valencia. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=74887>
- White, J.W., Jr. (1979). Spectrophotometric Method for Hydroxymethylfurfural in Honey. Sugars and sugar products. *Journal of Association of Official Analytical Chemists, Inc*, Vol. 62, N° 3, 509-514, 1979. <https://doi.org/10.1093/jaoac/62.3.509>
- Winkler, O. (1955) Z. Lebensm. Unters. Forsch. 102, 161-167
- Zambrano, P. A. y Ortega, S. (2015). Validación de la determinación de hidroximetilfurfural (HMF) en miel de abejas por el método 980.23 de la AOAC para el laboratorio de análisis de aguas y alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira. Disponible en: <https://hdl.handle.net/11059/6063>

ANEXOS.

ANEXO A. Preparación del reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico).

La preparación del ácido 3,5-dinitrosalicílico mejor conocido como reactivo DNS, se prepara de acuerdo a las instrucciones establecidas en CIATEJ Subsede Sureste. El procedimiento se muestra a continuación:

Reactivos:

10 g de hidróxido de sodio (NaOH), 200 g de tartrato de sodio y potasio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 10 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), 0.5 g de metabisulfito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) y 2 g de fenol ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$).

Equipos y materiales:

Balanza analítica, placa de agitación, agitador magnético, matraz Erlenmeyer de 1000 ml, probeta de 1000 ml, espátulas y papel aluminio.

Preparación:

1. Acondicionar la campana de extracción y colocar la placa de agitación.
2. Colocar el matraz Erlenmeyer con el agitador magnético y adicionar un poco de agua sin sobrepasar los 600 o 700 ml.
3. Diluir el tartrato de sodio y potasio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (lentamente y de forma constante)
4. Agregar el hidróxido de sodio (NaOH) lentamente hasta su completa disolución.
5. Incorporar el metabisulfito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) y el fenol ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$). Estos se agregan ya diluidos.
6. Adicionar el reactivo ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) en pequeñas cantidades y de forma constante hasta su completa disolución.
7. Finalmente transvasar el contenido en la probeta y terminar de aforar con agua destilada.

ANEXO B. Registro de la temperatura ambiente de almacenamiento.

No. de día de medición	Fecha de medición	Lectura inicial (°C)	Lectura final (°C)	Promedio del día (°C)
0	01/09/2022	29.0	26.0	27.5
1	02/09/2022	29.0	28.0	28.5
4	05/09/2022	30.0	28.0	29.0
5	06/09/2022	30.0	29.0	29.5
6	07/09/2022	30.0	29.0	29.5
7	08/09/2022	30.0	28.0	29.0
8	09/09/2022	28.0	30.0	29.0
11	12/09/2022	30.0	28.0	29.0
12	13/09/2022	30.0	27.0	28.5
13	14/09/2022	29.0	28.0	28.5
14	15/09/2022	30.0	29.0	29.5
18	19/09/2022	29.0	28.0	28.5
19	20/09/2022	29.0	27.0	28.0
20	21/09/2022	29.0	27.0	28.0
21	22/09/2022	28.0	27.0	27.5
22	23/09/2022	28.0	28.0	28.0
25	26/09/2022	27.0	28.0	27.5
26	27/09/2022	29.0	28.0	28.5

No. de día de medición	Fecha de medición	Lectura inicial (°C)	Lectura final (°C)	Promedio del día (°C)
27	28/09/2022	29.0	30.0	29.5
28	29/09/2022	29.0	27.0	28.0
29	30/09/2022	27.0	28.0	27.5
32	03/10/2022	30.0	28.0	29.0
33	04/10/2022	29.0	29.0	29.0
34	05/10/2022	29.0	30.0	29.5
35	06/10/2022	29.0	29.0	29.0
36	07/10/2022	29.0	30.0	29.5
39	10/10/2022	30.0	28.0	29.0
40	11/10/2022	29.0	29.0	29.0
42	13/10/2022	29.0	27.0	28.0
43	14/10/2022	29.0	28.0	28.5
46	17/10/2022	31.0	29.0	30.0
47	18/10/2022	30.0	29.0	29.5
48	19/10/2022	29.0	28.0	28.5
49	20/10/2022	28.0	28.0	28.0
50	21/10/2022	27.0	29.0	28.0
53	24/10/2022	28.0	29.0	28.5
54	25/10/2022	32.0	30.0	31.0

55	26/10/2022	30.0	28.0	29.0
56	27/10/2022	29.0	28.0	28.5
57	28/10/2022	29.0	29.0	29.0
60	31/10/2022	29.0	29.0	29.0
61	01/11/2022	29.0	29.0	29.0
63	03/11/2022	29.0	28.0	28.5
64	04/11/2022	28.0	28.0	28.0
67	07/11/2022	29.0	28.0	28.5
68	08/11/2022	29.0	30.0	29.5
69	09/11/2022	28.0	28.0	28.0
70	10/11/2022	29.0	29.0	29.0
71	11/11/2022	28.0	29.0	28.5
74	14/11/2022	29.0	28.0	28.5
75	15/11/2022	28.0	30.0	29.0
76	16/11/2022	30.0	29.0	29.5
77	17/11/2022	29.0	30.0	29.5
78	18/11/2022	29.0	28.0	28.5
79	19/11/2022	28.0	27.0	27.5
80	20/11/2022	28.0	28.0	28.0
Promedio general (°C)				28.7

ANEXO C. Datos de la prueba de precisión (validación del método espectrofotométrico de White).

Tabla C-1. Registro de valores de absorbancia “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm) para la prueba de precisión del método.

No. Muestra	Código	Fecha determinación	No. de prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
6	TAH-BM	24/08/2022	1	0.357	0.358	0.359	0.272	0.273	0.274	0.069	0.07	0.072	0.06	0.061	0.062
			2	0.363	0.364	0.365	0.273	0.274	0.275	0.074	0.075	0.075	0.062	0.063	0.065
			3	0.371	0.371	0.373	0.271	0.272	0.272	0.071	0.071	0.072	0.06	0.062	0.062
		25/08/2022	1	0.391	0.392	0.393	0.295	0.296	0.297	0.069	0.069	0.070	0.059	0.060	0.060
			2	0.370	0.371	0.371	0.285	0.286	0.287	0.069	0.070	0.070	0.060	0.061	0.063
			3	0.368	0.369	0.369	0.278	0.278	0.279	0.066	0.066	0.067	0.063	0.063	0.064
		26/08/2022	1	0.38	0.381	0.383	0.295	0.295	0.296	0.074	0.075	0.076	0.067	0.068	0.069
			2	0.379	0.38	0.38	0.287	0.287	0.288	0.075	0.076	0.077	0.063	0.064	0.064
			3	0.376	0.377	0.378	0.283	0.284	0.285	0.071	0.072	0.072	0.061	0.062	0.062

Tabla C-2. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). Prueba de precisión del método.

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. de Prueba	Muestra 284 - Referencia 284			Muestra 336 - Referencia 336		
					Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
6	TAH-BM	Tahdziu	24/08/2022	1	0.085	0.085	0.085	0.009	0.009	0.010
				2	0.090	0.090	0.090	0.012	0.012	0.010
				3	0.100	0.099	0.101	0.011	0.009	0.010
			25/08/2022	1	0.096	0.096	0.096	0.010	0.009	0.010
				2	0.085	0.085	0.084	0.009	0.009	0.007
				3	0.090	0.091	0.090	0.003	0.003	0.003
			26/08/2022	1	0.085	0.086	0.087	0.007	0.007	0.007
				2	0.092	0.093	0.092	0.012	0.012	0.013
				3	0.093	0.093	0.093	0.010	0.010	0.010

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0164667	2	0.00823333	0.22	0.8066
Intra grupos	0.221733	6	0.0369556		
Total (Corr.)	0.2382	8			

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	3	2.94667	X
C3	3	2.98333	X
C2	3	3.05	X

Figura C-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos para la prueba de precisión del método.

Promedio

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} = \frac{x_1 + x_2 + x_3}{n}$$

$$\bar{X} = \frac{2.94 + 3.05 + 2.98}{3}$$

$$\bar{X} = 2.99$$

Desviación estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

x_i	$x_i - \bar{X}$	$(x_i - \bar{X})^2$
2.94	-0.05	0.0025
3.05	0.06	0.0036
2.98	-0.01	0.0001
$\sum x_i = 8.97$	$\bar{X} = 2.99$	$\sum (x_i - \bar{X})^2 = 0.0062$

$$s = \sqrt{\frac{0.0062}{2}}$$

$$s = 0.05$$

Coefficiente de variación

$$CV\% = \frac{s}{\bar{X}} * 100$$

$$CV\% = \frac{0.05}{2.99} * 100$$

$$CV\% = 1.80$$

Figura C-2. Resultados de la prueba de repetibilidad para evaluar la precisión del método

ANEXO D. Registro de Valores de absorbancias para “Muestra y “Referencia” de las distintas evaluaciones realizadas.

Tabla D-1. Registro de valores de absorbancia para “Muestra y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 1° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Fecha de determinación	No. Prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
1	SIP-PT	12/09/2022	1	0.455	0.455	0.456	0.389	0.390	0.390	0.110	0.111	0.111	0.102	0.103	0.104
			2	0.441	0.442	0.442	0.362	0.363	0.364	0.110	0.111	0.112	0.096	0.097	0.097
2	ACEK-DZ	12/09/2022	1	0.516	0.517	0.517	0.388	0.389	0.389	0.104	0.105	0.106	0.095	0.096	0.097
			2	0.517	0.518	0.518	0.382	0.383	0.383	0.095	0.095	0.096	0.087	0.088	0.088
3	ACEK-JA	13/09/2022	1	0.558	0.559	0.560	0.430	0.432	0.433	0.111	0.111	0.112	0.102	0.103	0.103
			2	0.550	0.551	0.552	0.430	0.432	0.433	0.109	0.110	0.110	0.102	0.102	0.103
4	PIHOL-TD	13/09/2022	1	0.454	0.455	0.456	0.320	0.321	0.323	0.091	0.092	0.092	0.077	0.078	0.078
			2	0.457	0.458	0.459	0.322	0.323	0.325	0.089	0.090	0.090	0.074	0.075	0.076
5	PIHOL-DJ	13/09/2022	1	0.564	0.565	0.567	0.424	0.425	0.426	0.109	0.110	0.110	0.100	0.101	0.101
			2	0.560	0.561	0.563	0.422	0.423	0.425	0.107	0.108	0.108	0.095	0.096	0.097
6	TAH-BM	14/09/2022	1	0.477	0.479	0.479	0.347	0.348	0.349	0.081	0.083	0.085	0.076	0.076	0.077
			2	0.434	0.435	0.436	0.311	0.312	0.312	0.080	0.081	0.082	0.072	0.072	0.073
7	TAH-DZ	14/09/2022	1	0.516	0.517	0.518	0.376	0.377	0.378	0.104	0.104	0.105	0.091	0.091	0.092
			2	0.514	0.515	0.516	0.377	0.377	0.378	0.099	0.099	0.100	0.085	0.086	0.086
8	TAH-JA	14/09/2022	1	0.488	0.489	0.490	0.354	0.354	0.355	0.084	0.085	0.086	0.075	0.076	0.076
			2	0.482	0.483	0.484	0.351	0.352	0.353	0.084	0.085	0.085	0.077	0.078	0.078
9	POTI-DZ	20/09/2022	1	0.348	0.349	0.349	0.318	0.319	0.320	0.077	0.078	0.078	0.072	0.072	0.073
			2	0.340	0.341	0.342	0.310	0.312	0.313	0.077	0.078	0.079	0.070	0.071	0.072

Tabla D-1. Registro de valores de absorbancia para “Muestra y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 1° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Fecha de determinación	No. Prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
11	POTI-TX	20/09/2022	1	0.273	0.273	0.274	0.253	0.253	0.254	0.071	0.072	0.073	0.065	0.066	0.067
			2	0.280	0.282	0.283	0.258	0.259	0.260	0.073	0.074	0.074	0.068	0.068	0.069
12	PE-DZ	21/09/2022	1	0.498	0.499	0.500	0.379	0.380	0.381	0.085	0.086	0.087	0.078	0.078	0.079
			2	0.503	0.504	0.505	0.383	0.384	0.385	0.085	0.086	0.087	0.078	0.079	0.079
13	PE-DZJACHA	21/09/2022	1	0.376	0.377	0.378	0.297	0.298	0.299	0.110	0.111	0.111	0.082	0.082	0.083
			2	0.370	0.372	0.373	0.293	0.294	0.294	0.109	0.110	0.111	0.083	0.084	0.084
14	PE-CHAJA	21/09/2022	1	0.350	0.351	0.352	0.322	0.323	0.324	0.107	0.108	0.108	0.094	0.095	0.096
			2	0.342	0.343	0.344	0.316	0.317	0.319	0.104	0.105	0.106	0.093	0.094	0.094
15	PE-TAVESOL	22/09/2022	1	0.524	0.525	0.526	0.391	0.393	0.394	0.106	0.107	0.107	0.098	0.099	0.099
			2	0.525	0.526	0.527	0.394	0.395	0.396	0.107	0.107	0.108	0.100	0.101	0.102
C1 (16)	COL-CR	22/09/2022	1	0.378	0.378	0.379	0.320	0.319	0.318	0.093	0.094	0.095	0.088	0.088	0.089
			2	0.385	0.386	0.387	0.332	0.333	0.334	0.099	0.100	0.100	0.090	0.091	0.092
C2 (17)	COL-DP	22/09/2022	1	0.542	0.543	0.544	0.307	0.309	0.310	0.122	0.123	0.123	0.111	0.112	0.113
			2	0.539	0.540	0.542	0.306	0.307	0.308	0.123	0.124	0.125	0.112	0.114	0.115

Tabla D-2. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 2° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Fecha de determinación	No. Prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
1	SIP-PT	26/09/2022	1	0.473	0.474	0.475	0.398	0.399	0.400	0.118	0.119	0.119	0.109	0.110	0.110
			2	0.472	0.473	0.475	0.397	0.398	0.399	0.116	0.117	0.118	0.108	0.109	0.110
2	ACEK-DZ	26/09/2022	1	0.362	0.363	0.365	0.265	0.267	0.269	0.063	0.064	0.064	0.050	0.051	0.052
			2	0.366	0.367	0.368	0.268	0.269	0.270	0.064	0.064	0.065	0.051	0.052	0.054
3	ACEK-JA	26/09/2022	1	0.546	0.547	0.548	0.409	0.410	0.412	0.104	0.105	0.106	0.098	0.099	0.099
			2	0.542	0.543	0.544	0.410	0.411	0.411	0.105	0.106	0.107	0.097	0.098	0.099
4	PIHOL-TD	26/09/2022	1	0.445	0.446	0.447	0.323	0.324	0.325	0.083	0.083	0.084	0.075	0.075	0.076
			2	0.447	0.447	0.448	0.322	0.323	0.323	0.086	0.087	0.087	0.077	0.077	0.078
5	PIHOL-DJ	26/09/2022	1	0.547	0.549	0.550	0.410	0.410	0.411	0.099	0.099	0.100	0.093	0.094	0.094
			2	0.547	0.548	0.549	0.409	0.410	0.410	0.097	0.098	0.099	0.091	0.092	0.093
6	TAH-BM	26/09/2022	1	0.540	0.541	0.541	0.383	0.384	0.385	0.110	0.111	0.111	0.089	0.090	0.090
			2	0.540	0.542	0.543	0.382	0.383	0.384	0.110	0.111	0.113	0.086	0.087	0.089
7	TAH-DZ	27/09/2022	1	0.517	0.517	0.518	0.354	0.355	0.356	0.086	0.086	0.087	0.076	0.077	0.077
			2	0.515	0.516	0.517	0.351	0.352	0.353	0.085	0.086	0.088	0.074	0.075	0.075
8	TAH-JA	27/09/2022	1	0.481	0.482	0.483	0.322	0.324	0.325	0.080	0.081	0.081	0.071	0.071	0.071
			2	0.482	0.483	0.484	0.323	0.324	0.326	0.079	0.080	0.081	0.070	0.071	0.072
9	POTI-DZ	27/09/2022	1	0.337	0.337	0.338	0.301	0.302	0.303	0.086	0.086	0.087	0.078	0.079	0.080
			2	0.338	0.338	0.339	0.300	0.301	0.301	0.085	0.086	0.088	0.076	0.077	0.077
11	POTI-TX	27/09/2022	1	0.237	0.239	0.240	0.212	0.213	0.215	0.068	0.069	0.070	0.061	0.062	0.062
			2	0.238	0.239	0.239	0.211	0.213	0.213	0.067	0.068	0.068	0.059	0.060	0.060
12	PE-DZ	27/09/2022	1	0.477	0.478	0.478	0.352	0.354	0.356	0.083	0.084	0.085	0.075	0.075	0.076
			2	0.475	0.476	0.478	0.353	0.354	0.354	0.084	0.085	0.087	0.074	0.075	0.076

Tabla D-2. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 2° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Fecha de determinación	No. Prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
13	PE-DZJACHA	27/09/2022	1	0.355	0.356	0.357	0.267	0.267	0.269	0.108	0.109	0.110	0.081	0.082	0.082
			2	0.358	0.359	0.360	0.269	0.270	0.270	0.106	0.107	0.108	0.079	0.080	0.082
14	PE-CHAJA	28/09/2022	1	0.352	0.353	0.355	0.319	0.319	0.320	0.094	0.095	0.095	0.085	0.085	0.086
			2	0.352	0.353	0.354	0.318	0.320	0.321	0.096	0.097	0.098	0.087	0.087	0.088
15	PE-TAVESOL	28/09/2022	1	0.529	0.530	0.532	0.395	0.395	0.397	0.102	0.103	0.104	0.091	0.092	0.092
			2	0.528	0.529	0.531	0.395	0.397	0.397	0.098	0.100	0.101	0.092	0.092	0.094
C1 (16)	COL-CR	28/09/2022	1	0.397	0.398	0.400	0.335	0.336	0.337	0.091	0.092	0.092	0.083	0.084	0.084
			2	0.391	0.392	0.393	0.328	0.329	0.330	0.086	0.086	0.087	0.081	0.082	0.082
C2 (17)	COL-DP	28/09/2022	1	0.551	0.551	0.552	0.317	0.318	0.319	0.116	0.116	0.117	0.104	0.105	0.105
			2	0.563	0.564	0.565	0.323	0.324	0.325	0.118	0.118	0.119	0.102	0.103	0.103
A (18)	COL-CZ	29/09/2022	1	0.477	0.478	0.479	0.462	0.463	0.464	0.113	0.114	0.114	0.107	0.107	0.108
			2	0.475	0.476	0.476	0.460	0.461	0.463	0.112	0.112	0.113	0.105	0.106	0.107
B (19)	COL-SCE	29/09/2022	1	0.243	0.244	0.245	0.208	0.210	0.211	0.049	0.049	0.050	0.032	0.032	0.033
			2	0.239	0.239	0.241	0.206	0.207	0.208	0.047	0.047	0.048	0.033	0.034	0.036
C (20)	COL-CAZIO	29/09/2022	1	0.327	0.329	0.330	0.264	0.265	0.265	0.057	0.058	0.060	0.051	0.052	0.052
			2	0.326	0.327	0.329	0.264	0.266	0.267	0.066	0.066	0.067	0.054	0.055	0.056
D (21)	COL-CZMB	29/09/2022	1	0.517	0.518	0.519	0.373	0.374	0.375	0.103	0.104	0.105	0.089	0.090	0.090
			2	0.515	0.516	0.516	0.371	0.372	0.373	0.106	0.107	0.108	0.093	0.094	0.094

Tabla D-3. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 3° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Fecha de determinación	No. Prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
1	SIP-PT	10/10/2022	1	0.476	0.477	0.477	0.399	0.399	0.400	0.117	0.117	0.118	0.109	0.110	0.111
			2	0.479	0.480	0.481	0.402	0.403	0.403	0.119	0.120	0.120	0.110	0.111	0.112
2	ACEK-DZ	10/10/2022	1	0.374	0.375	0.376	0.269	0.269	0.270	0.074	0.075	0.076	0.059	0.059	0.060
			2	0.372	0.373	0.375	0.266	0.268	0.269	0.075	0.076	0.077	0.058	0.059	0.059
3	ACEK-JA	10/10/2022	1	0.555	0.555	0.556	0.411	0.412	0.412	0.111	0.112	0.112	0.101	0.101	0.102
			2	0.553	0.554	0.555	0.412	0.413	0.413	0.111	0.112	0.113	0.102	0.102	0.103
4	PIHOL-TD	10/10/2022	1	0.452	0.453	0.453	0.318	0.318	0.320	0.079	0.080	0.080	0.072	0.072	0.073
			2	0.450	0.450	0.451	0.319	0.320	0.321	0.080	0.081	0.081	0.072	0.073	0.073
5	PIHOL-DJ	10/10/2022	1	0.542	0.543	0.545	0.401	0.402	0.403	0.098	0.098	0.100	0.091	0.092	0.093
			2	0.538	0.539	0.540	0.399	0.400	0.400	0.097	0.098	0.099	0.089	0.090	0.090
6	TAH-BM	10/10/2022	1	0.487	0.488	0.489	0.330	0.331	0.332	0.079	0.079	0.080	0.072	0.072	0.073
			2	0.485	0.486	0.488	0.328	0.329	0.330	0.080	0.081	0.082	0.072	0.073	0.074
7	TAH-DZ	10/10/2022	1	0.512	0.513	0.514	0.346	0.347	0.348	0.080	0.081	0.082	0.074	0.075	0.075
			2	0.514	0.515	0.517	0.345	0.346	0.348	0.079	0.080	0.081	0.072	0.073	0.074
8	TAH-JA	11/10/2022	1	0.523	0.524	0.525	0.362	0.363	0.364	0.082	0.083	0.084	0.077	0.077	0.078
			2	0.525	0.526	0.527	0.360	0.362	0.362	0.083	0.083	0.084	0.076	0.077	0.079
9	POTI-DZ	11/10/2022	1	0.349	0.350	0.350	0.309	0.310	0.312	0.068	0.068	0.069	0.064	0.065	0.065
			2	0.346	0.347	0.347	0.307	0.308	0.309	0.069	0.070	0.070	0.065	0.066	0.066
11	POTI-TX	11/10/2022	1	0.263	0.265	0.266	0.233	0.234	0.235	0.066	0.067	0.068	0.056	0.057	0.057
			2	0.260	0.262	0.264	0.230	0.231	0.232	0.067	0.068	0.069	0.055	0.057	0.058
12	PE-DZ	11/10/2022	1	0.487	0.488	0.489	0.364	0.366	0.368	0.084	0.085	0.085	0.075	0.075	0.076
			2	0.486	0.486	0.487	0.362	0.362	0.364	0.083	0.084	0.085	0.076	0.076	0.077

Tabla D-3. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 3° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Fecha de determinación	No. Prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
13	PE-DZJACHA	11/10/2022	1	0.392	0.394	0.395	0.304	0.304	0.305	0.095	0.096	0.097	0.078	0.078	0.079
			2	0.390	0.391	0.393	0.302	0.302	0.303	0.093	0.094	0.096	0.076	0.077	0.077
14	PE-CHAJA	13/10/2022	1	0.359	0.360	0.361	0.317	0.318	0.319	0.094	0.095	0.095	0.086	0.086	0.087
			2	0.357	0.359	0.360	0.315	0.317	0.317	0.093	0.095	0.096	0.085	0.085	0.087
15	PE-TAVESOL	13/10/2022	1	0.578	0.579	0.580	0.442	0.443	0.444	0.132	0.132	0.133	0.120	0.120	0.121
			2	0.580	0.581	0.583	0.441	0.442	0.443	0.130	0.131	0.131	0.120	0.122	0.123
C1 (16)	COL-CR	13/10/2022	1	0.389	0.390	0.391	0.323	0.325	0.326	0.095	0.095	0.096	0.086	0.087	0.087
			2	0.390	0.391	0.393	0.325	0.327	0.328	0.093	0.094	0.094	0.084	0.085	0.085
C2 (17)	COL-DP	13/10/2022	1	0.575	0.575	0.576	0.332	0.334	0.335	0.126	0.127	0.129	0.110	0.112	0.113
			2	0.574	0.576	0.578	0.331	0.333	0.334	0.124	0.125	0.127	0.111	0.112	0.114
A (18)	COL-CZ	13/10/2022	1	0.495	0.496	0.496	0.476	0.477	0.477	0.128	0.130	0.131	0.119	0.121	0.121
			2	0.493	0.494	0.495	0.473	0.474	0.476	0.127	0.128	0.130	0.118	0.119	0.120
B (19)	COL-SCE	13/10/2022	1	0.238	0.239	0.239	0.195	0.196	0.198	0.047	0.049	0.050	0.032	0.033	0.033
			2	0.236	0.236	0.237	0.197	0.197	0.199	0.046	0.048	0.049	0.033	0.033	0.034
C (20)	COL-CAZIO	13/10/2022	1	0.336	0.337	0.339	0.274	0.275	0.276	0.066	0.066	0.067	0.056	0.057	0.057
			2	0.337	0.339	0.340	0.273	0.274	0.274	0.065	0.067	0.068	0.057	0.058	0.059
D (21)	COL-CZMB	13/10/2022	1	0.527	0.529	0.530	0.371	0.372	0.375	0.106	0.107	0.108	0.093	0.094	0.094
			2	0.525	0.526	0.528	0.373	0.374	0.374	0.105	0.106	0.106	0.092	0.093	0.094

Tabla D-4. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 4° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Fecha de determinación	No. Prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
1	SIP-PT	24/10/2022	1	0.513	0.514	0.515	0.432	0.433	0.434	0.119	0.119	0.120	0.111	0.112	0.112
			2	0.514	0.514	0.516	0.430	0.431	0.432	0.118	0.119	0.121	0.110	0.110	0.111
2	ACEK-DZ	24/10/2022	1	0.396	0.397	0.397	0.295	0.296	0.297	0.071	0.071	0.072	0.062	0.063	0.064
			2	0.394	0.395	0.396	0.296	0.297	0.297	0.072	0.073	0.074	0.063	0.064	0.064
3	ACEK-JA	24/10/2022	1	0.580	0.581	0.582	0.438	0.438	0.440	0.116	0.117	0.117	0.109	0.109	0.110
			2	0.578	0.579	0.579	0.437	0.438	0.438	0.115	0.117	0.118	0.108	0.110	0.110
4	PIHOL-TD	24/10/2022	1	0.467	0.468	0.468	0.335	0.336	0.336	0.096	0.096	0.097	0.087	0.088	0.088
			2	0.465	0.467	0.469	0.332	0.333	0.335	0.094	0.096	0.097	0.088	0.089	0.090
5	PIHOL-DJ	24/10/2022	1	0.407	0.407	0.409	0.305	0.307	0.308	0.085	0.086	0.086	0.074	0.075	0.075
			2	0.406	0.407	0.408	0.304	0.305	0.306	0.083	0.083	0.083	0.073	0.073	0.074
6	TAH-BM	24/10/2022	1	0.542	0.543	0.544	0.382	0.383	0.384	0.093	0.094	0.095	0.086	0.087	0.087
			2	0.541	0.541	0.542	0.380	0.382	0.382	0.092	0.092	0.094	0.085	0.086	0.086
7	TAH-DZ	25/10/2022	1	0.576	0.577	0.577	0.406	0.407	0.408	0.095	0.095	0.096	0.089	0.090	0.090
			2	0.574	0.575	0.577	0.404	0.405	0.407	0.096	0.097	0.097	0.088	0.088	0.089
8	TAH-JA	25/10/2022	1	0.545	0.546	0.546	0.378	0.379	0.379	0.094	0.095	0.095	0.087	0.087	0.088
			2	0.547	0.548	0.548	0.380	0.381	0.382	0.092	0.093	0.095	0.086	0.088	0.089
9	POTI-DZ	25/10/2022	1	0.407	0.408	0.409	0.362	0.363	0.365	0.100	0.101	0.101	0.094	0.095	0.096
			2	0.406	0.408	0.408	0.363	0.364	0.365	0.102	0.102	0.103	0.094	0.095	0.095
11	POTI-TX	25/10/2022	1	0.288	0.288	0.290	0.255	0.255	0.256	0.060	0.060	0.061	0.052	0.052	0.053
			2	0.287	0.289	0.290	0.254	0.254	0.256	0.062	0.062	0.063	0.052	0.053	0.054
12	PE-DZ	25/10/2022	1	0.522	0.523	0.525	0.387	0.387	0.389	0.090	0.091	0.091	0.078	0.078	0.079
			2	0.520	0.522	0.522	0.386	0.388	0.388	0.091	0.092	0.093	0.077	0.077	0.078

Tabla D-4. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 4° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Fecha de determinación	No. Prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
13	PE-DZJACHA	25/10/2022	1	0.408	0.409	0.410	0.317	0.319	0.319	0.086	0.087	0.089	0.077	0.078	0.078
			2	0.405	0.406	0.408	0.317	0.318	0.319	0.084	0.085	0.087	0.074	0.075	0.076
14	PE-CHAJA	26/10/2022	1	0.374	0.375	0.377	0.334	0.335	0.336	0.104	0.105	0.106	0.097	0.098	0.098
			2	0.378	0.378	0.379	0.332	0.333	0.334	0.105	0.106	0.108	0.096	0.097	0.099
15	PE-TAVESOL	26/10/2022	1	0.565	0.566	0.567	0.427	0.427	0.428	0.114	0.114	0.115	0.105	0.105	0.106
			2	0.566	0.567	0.568	0.426	0.428	0.429	0.115	0.116	0.116	0.104	0.106	0.107
C1 (16)	COL-CR	26/10/2022	1	0.489	0.490	0.492	0.420	0.421	0.422	0.154	0.155	0.155	0.140	0.141	0.141
			2	0.490	0.491	0.492	0.418	0.419	0.420	0.153	0.154	0.156	0.138	0.139	0.141
C2 (17)	COL-DP	26/10/2022	1	0.595	0.595	0.596	0.349	0.350	0.351	0.136	0.136	0.137	0.123	0.124	0.124
			2	0.595	0.595	0.596	0.349	0.350	0.351	0.136	0.137	0.138	0.123	0.124	0.124
A (18)	COL-CZ	27/10/2022	1	0.542	0.544	0.546	0.518	0.520	0.521	0.177	0.177	0.178	0.168	0.168	0.169
			2	0.540	0.541	0.542	0.517	0.517	0.518	0.175	0.176	0.177	0.168	0.169	0.170
B (19)	COL-SCE	27/10/2022	1	0.281	0.281	0.282	0.242	0.244	0.245	0.063	0.063	0.064	0.050	0.050	0.051
			2	0.283	0.284	0.284	0.241	0.243	0.243	0.064	0.065	0.065	0.052	0.052	0.053
C (20)	COL-CAZIO	27/10/2022	1	0.380	0.381	0.383	0.294	0.295	0.297	0.079	0.081	0.082	0.068	0.068	0.069
			2	0.382	0.383	0.383	0.293	0.294	0.294	0.080	0.081	0.081	0.067	0.069	0.069
D (21)	COL-CZMB	27/10/2022	1	0.550	0.551	0.553	0.374	0.375	0.376	0.100	0.101	0.101	0.089	0.089	0.090
			2	0.549	0.549	0.550	0.372	0.373	0.374	0.101	0.102	0.103	0.088	0.089	0.089

Tabla D-5. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 5° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Fecha de determinación	No. Prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
1	SIP-PT	07/11/2022	1	0.550	0.552	0.553	0.464	0.465	0.466	0.146	0.147	0.147	0.138	0.139	0.139
			2	0.552	0.553	0.554	0.463	0.464	0.465	0.147	0.148	0.148	0.137	0.138	0.139
2	ACEK-DZ	07/11/2022	1	0.442	0.443	0.443	0.338	0.339	0.340	0.096	0.097	0.098	0.088	0.088	0.089
			2	0.440	0.441	0.442	0.336	0.337	0.338	0.092	0.093	0.094	0.085	0.086	0.086
3	ACEK-JA	07/11/2022	1	0.432	0.433	0.434	0.328	0.329	0.330	0.118	0.118	0.119	0.108	0.108	0.108
			2	0.434	0.435	0.435	0.329	0.330	0.332	0.117	0.118	0.118	0.106	0.107	0.108
4	PIHOL-TD	07/11/2022	1	0.484	0.486	0.487	0.342	0.343	0.343	0.109	0.109	0.110	0.098	0.098	0.099
			2	0.486	0.487	0.489	0.341	0.342	0.344	0.111	0.112	0.112	0.099	0.100	0.101
5	PIHOL-DJ	07/11/2022	1	0.428	0.429	0.430	0.313	0.314	0.314	0.098	0.099	0.100	0.083	0.084	0.084
			2	0.427	0.428	0.430	0.312	0.313	0.315	0.100	0.101	0.101	0.083	0.084	0.085
6	TAH-BM	07/11/2022	1	0.388	0.389	0.390	0.275	0.275	0.276	0.068	0.068	0.069	0.060	0.061	0.062
			2	0.387	0.388	0.389	0.274	0.276	0.277	0.069	0.070	0.071	0.061	0.062	0.062
7	TAH-DZ	08/11/2022	1	0.390	0.390	0.391	0.260	0.261	0.262	0.066	0.067	0.067	0.059	0.059	0.060
			2	0.392	0.393	0.395	0.263	0.263	0.264	0.068	0.068	0.069	0.061	0.061	0.062
8	TAH-JA	08/11/2022	1	0.362	0.363	0.364	0.245	0.246	0.246	0.065	0.065	0.066	0.056	0.057	0.058
			2	0.364	0.366	0.366	0.247	0.247	0.248	0.066	0.067	0.068	0.057	0.058	0.059
9	POTI-DZ	08/11/2022	1	0.395	0.396	0.397	0.349	0.349	0.350	0.090	0.091	0.091	0.083	0.083	0.084
			2	0.397	0.398	0.399	0.350	0.351	0.352	0.091	0.092	0.093	0.083	0.084	0.085
11	POTI-TX	08/11/2022	1	0.286	0.286	0.288	0.247	0.248	0.249	0.067	0.068	0.069	0.058	0.058	0.059
			2	0.285	0.287	0.288	0.246	0.247	0.248	0.068	0.069	0.070	0.057	0.058	0.059
12	PE-DZ	08/11/2022	1	0.352	0.353	0.355	0.260	0.261	0.263	0.066	0.067	0.068	0.058	0.059	0.060
			2	0.354	0.355	0.356	0.262	0.264	0.264	0.068	0.069	0.069	0.060	0.060	0.061

Tabla D-5. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 5° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Fecha de determinación	No. Prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
13	PE-DZJACHA	08/11/2022	1	0.415	0.417	0.418	0.319	0.319	0.320	0.095	0.096	0.096	0.085	0.086	0.086
			2	0.416	0.417	0.418	0.320	0.321	0.322	0.094	0.096	0.097	0.083	0.085	0.086
14	PE-CHAJA	09/11/2022	1	0.418	0.418	0.419	0.358	0.359	0.359	0.121	0.122	0.122	0.098	0.098	0.099
			2	0.416	0.417	0.418	0.356	0.357	0.358	0.119	0.120	0.121	0.096	0.098	0.099
15	PE-TAVESOL	09/11/2022	1	0.402	0.403	0.403	0.308	0.309	0.310	0.087	0.088	0.089	0.080	0.081	0.081
			2	0.400	0.400	0.401	0.306	0.306	0.307	0.088	0.089	0.090	0.081	0.082	0.083
C1 (16)	COL-CR	09/11/2022	1	0.471	0.472	0.474	0.385	0.386	0.387	0.116	0.116	0.117	0.107	0.107	0.108
			2	0.469	0.470	0.471	0.384	0.385	0.386	0.114	0.115	0.117	0.105	0.107	0.107
C2 (17)	COL-DP	09/11/2022	1	0.408	0.408	0.409	0.237	0.238	0.240	0.095	0.096	0.096	0.081	0.081	0.082
			2	0.406	0.407	0.408	0.235	0.236	0.237	0.093	0.094	0.095	0.080	0.080	0.081
A (18)	COL-CZ	10/11/2022	1	0.554	0.555	0.556	0.523	0.523	0.524	0.137	0.138	0.138	0.126	0.126	0.127
			2	0.555	0.556	0.557	0.524	0.525	0.526	0.136	0.137	0.138	0.124	0.125	0.125
B (19)	COL-SCE	10/11/2022	1	0.275	0.276	0.277	0.236	0.237	0.239	0.058	0.058	0.059	0.047	0.047	0.048
			2	0.273	0.273	0.275	0.231	0.232	0.233	0.059	0.060	0.061	0.046	0.047	0.047
C (20)	COL-CAZIO	10/11/2022	1	0.383	0.384	0.384	0.300	0.300	0.301	0.076	0.077	0.077	0.070	0.070	0.071
			2	0.382	0.384	0.385	0.298	0.300	0.301	0.074	0.075	0.076	0.067	0.068	0.070
D (21)	COL-CZMB	10/11/2022	1	0.430	0.430	0.431	0.286	0.287	0.288	0.086	0.087	0.088	0.072	0.072	0.073
			2	0.427	0.428	0.429	0.284	0.285	0.287	0.084	0.085	0.085	0.070	0.070	0.071

Tabla D-6. Registro de valores de absorbancia para “Muestra” y “Referencia” (284 nm y 336 nm). 6° evaluación.

No. Muestra	Código	Fecha de determinación	No. Prueba	Muestra 284			Referencia 284			Muestra 336			Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
9	POTI-DZ	15/11/2022	1	0.384	0.385	0.385	0.332	0.334	0.335	0.092	0.092	0.094	0.084	0.084	0.085
			2	0.382	0.383	0.384	0.330	0.331	0.332	0.090	0.090	0.091	0.082	0.083	0.083
11	POTI-TX	15/11/2022	1	0.288	0.289	0.290	0.251	0.252	0.254	0.073	0.073	0.074	0.068	0.069	0.069
			2	0.290	0.291	0.292	0.252	0.252	0.253	0.074	0.075	0.076	0.068	0.069	0.070
12	PE-DZ	15/11/2022	1	0.370	0.371	0.372	0.273	0.274	0.275	0.069	0.069	0.070	0.060	0.061	0.062
			2	0.371	0.372	0.374	0.275	0.276	0.277	0.069	0.071	0.072	0.060	0.061	0.061
13	PE-DZJACHA	15/11/2022	1	0.430	0.431	0.431	0.324	0.324	0.325	0.098	0.098	0.099	0.090	0.091	0.092
			2	0.428	0.429	0.430	0.322	0.323	0.324	0.096	0.097	0.097	0.089	0.089	0.090
14	PE-CHAJA	16/11/2022	1	0.423	0.424	0.424	0.372	0.372	0.373	0.115	0.116	0.117	0.110	0.110	0.111
			2	0.422	0.423	0.424	0.371	0.372	0.373	0.112	0.113	0.114	0.108	0.109	0.110
15	PE-TAVESOL	16/11/2022	1	0.410	0.411	0.412	0.314	0.315	0.316	0.078	0.079	0.081	0.071	0.071	0.072
			2	0.412	0.413	0.414	0.316	0.317	0.318	0.077	0.079	0.080	0.069	0.070	0.071
C1 (16)	COL-CR	16/11/2022	1	0.452	0.453	0.454	0.354	0.355	0.356	0.106	0.107	0.107	0.097	0.098	0.098
			2	0.450	0.450	0.451	0.351	0.352	0.353	0.107	0.108	0.109	0.097	0.097	0.099
C2 (17)	COL-DP	16/11/2022	1	0.414	0.415	0.416	0.230	0.231	0.232	0.103	0.103	0.104	0.078	0.079	0.079
			2	0.412	0.413	0.414	0.227	0.228	0.229	0.105	0.106	0.107	0.079	0.080	0.082

ANEXO E. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336) de las distintas evaluaciones realizadas.

Tabla E-1. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 1° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	No. de Prueba	Muestra 284 - Referencia 284			Muestra 336 - Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
1	SIP-PT	Sierra Papacal	1	0.066	0.065	0.066	0.008	0.008	0.007
			2	0.079	0.079	0.078	0.014	0.014	0.015
2	ACEK-DZ	Acanceh	1	0.128	0.128	0.128	0.009	0.009	0.009
			2	0.135	0.135	0.135	0.008	0.007	0.008
3	ACEK-JA	Acanceh	1	0.128	0.127	0.127	0.009	0.008	0.009
			2	0.120	0.119	0.119	0.007	0.008	0.007
4	PIHOL-TD	Pixyah, Holenchen	1	0.134	0.134	0.133	0.014	0.014	0.014
			2	0.135	0.135	0.134	0.015	0.015	0.014
5	PIHOL-DJ	Pixyah, Holenchen	1	0.140	0.140	0.141	0.009	0.009	0.009
			2	0.138	0.138	0.138	0.012	0.012	0.011
6	TAH-BM	Tahdziu	1	0.130	0.131	0.130	0.005	0.007	0.008
			2	0.123	0.123	0.124	0.008	0.009	0.009
7	TAH-DZ	Tahdziu	1	0.140	0.140	0.140	0.013	0.013	0.013
			2	0.137	0.138	0.138	0.014	0.013	0.014
8	TAH-JA	Tahdziu	1	0.134	0.135	0.135	0.009	0.009	0.010
			2	0.131	0.131	0.131	0.007	0.007	0.007
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	1	0.030	0.030	0.029	0.005	0.006	0.005
			2	0.030	0.029	0.029	0.007	0.007	0.007

Tabla E-1. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 1° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	No. de Prueba	Muestra 284 – Referencia 284			Muestra 336 – Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	1	0.020	0.020	0.020	0.006	0.006	0.006
			2	0.022	0.023	0.023	0.005	0.006	0.005
12	PE-DZ	Peto	1	0.119	0.119	0.119	0.007	0.008	0.008
			2	0.120	0.120	0.120	0.007	0.007	0.008
13	PE-DZJACHA	Peto	1	0.079	0.079	0.079	0.028	0.029	0.028
			2	0.077	0.078	0.079	0.026	0.026	0.027
14	PE-CHAJA	Peto	1	0.028	0.028	0.028	0.013	0.013	0.012
			2	0.026	0.026	0.025	0.011	0.011	0.012
15	PE-TAVESOL	Peto	1	0.133	0.132	0.132	0.008	0.008	0.008
			2	0.131	0.131	0.131	0.007	0.006	0.006
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	1	0.058	0.059	0.061	0.005	0.006	0.006
			2	0.053	0.053	0.053	0.009	0.009	0.008
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	1	0.235	0.234	0.234	0.011	0.011	0.010
			2	0.233	0.233	0.234	0.011	0.010	0.010

Tabla E-2. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 2° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	No. de Prueba	Muestra 284 - Referencia 284			Muestra 336 - Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
1	SIP-PT	Sierra Papacal	1	0.075	0.075	0.075	0.009	0.009	0.009
			2	0.075	0.075	0.076	0.008	0.008	0.008
2	ACEK-DZ	Acanceh	1	0.097	0.096	0.096	0.013	0.013	0.012
			2	0.098	0.098	0.098	0.013	0.012	0.011
3	ACEK-JA	Acanceh	1	0.137	0.137	0.136	0.006	0.006	0.007
			2	0.132	0.132	0.133	0.008	0.008	0.008
4	PIHOL-TD	Pixyah, Holenchen	1	0.122	0.122	0.122	0.008	0.008	0.008
			2	0.125	0.124	0.125	0.009	0.010	0.009
5	PIHOL-DJ	Pixyah, Holenchen	1	0.137	0.139	0.139	0.006	0.005	0.006
			2	0.138	0.138	0.139	0.006	0.006	0.006
6	TAH-BM	Tahdziu	1	0.157	0.157	0.156	0.021	0.021	0.021
			2	0.158	0.159	0.159	0.024	0.024	0.024
7	TAH-DZ	Tahdziu	1	0.163	0.162	0.162	0.010	0.009	0.010
			2	0.164	0.164	0.164	0.011	0.011	0.013
8	TAH-JA	Tahdziu	1	0.159	0.158	0.158	0.009	0.010	0.010
			2	0.159	0.159	0.158	0.009	0.009	0.009
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	1	0.036	0.035	0.035	0.008	0.007	0.007
			2	0.038	0.037	0.038	0.009	0.009	0.011
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	1	0.025	0.026	0.025	0.007	0.007	0.008
			2	0.027	0.026	0.026	0.008	0.008	0.008
12	PE-DZ	Peto	1	0.125	0.124	0.122	0.008	0.009	0.009
			2	0.122	0.122	0.124	0.010	0.010	0.011

Tabla E-2. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 2° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	No. de Prueba	Muestra 284 - Referencia 284			Muestra 336 - Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
13	PE-DZJACHA	Peto	1	0.088	0.089	0.088	0.027	0.027	0.028
			2	0.089	0.089	0.090	0.027	0.027	0.026
14	PE-CHAJA	Peto	1	0.033	0.034	0.035	0.009	0.010	0.009
			2	0.034	0.033	0.033	0.009	0.010	0.010
15	PE-TAVESOL	Peto	1	0.134	0.135	0.135	0.011	0.011	0.012
			2	0.133	0.132	0.134	0.006	0.008	0.007
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	1	0.062	0.062	0.063	0.008	0.008	0.008
			2	0.063	0.063	0.063	0.005	0.004	0.005
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	1	0.234	0.233	0.233	0.012	0.011	0.012
			2	0.240	0.240	0.240	0.016	0.015	0.016
A (18)	COL-CZ	Baja-el salado	1	0.015	0.015	0.015	0.006	0.007	0.006
			2	0.015	0.015	0.013	0.007	0.006	0.006
B (19)	COL-SCE	Baja-el salado	1	0.035	0.034	0.034	0.017	0.017	0.017
			2	0.033	0.032	0.033	0.014	0.013	0.012
C (20)	COL-CAZIO	Media-Vereda Padula	1	0.063	0.064	0.065	0.006	0.006	0.008
			2	0.062	0.061	0.062	0.012	0.011	0.011
D (21)	COL-CZMB	Alta-Canzona	1	0.144	0.144	0.144	0.014	0.014	0.015
			2	0.144	0.144	0.143	0.013	0.013	0.014

Tabla E-3. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 3° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	No. de Prueba	Muestra 284 - Referencia 284			Muestra 336 - Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
1	SIP-PT	Sierra Papacal	1	0.077	0.078	0.077	0.008	0.007	0.007
			2	0.077	0.077	0.078	0.009	0.009	0.008
2	ACEK-DZ	Acanceh	1	0.105	0.106	0.106	0.015	0.016	0.016
			2	0.106	0.105	0.106	0.017	0.017	0.018
3	ACEK-JA	Acanceh	1	0.144	0.143	0.144	0.010	0.011	0.010
			2	0.141	0.141	0.142	0.009	0.010	0.010
4	PIHOL-TD	Pixyah, Holenchen	1	0.134	0.135	0.133	0.007	0.008	0.007
			2	0.131	0.130	0.130	0.008	0.008	0.008
5	PIHOL-DJ	Pixyah, Holenchen	1	0.141	0.141	0.142	0.007	0.006	0.007
			2	0.139	0.139	0.140	0.008	0.008	0.009
6	TAH-BM	Tahdziu	1	0.157	0.157	0.157	0.007	0.007	0.007
			2	0.157	0.157	0.158	0.008	0.008	0.008
7	TAH-DZ	Tahdziu	1	0.166	0.166	0.166	0.006	0.006	0.007
			2	0.169	0.169	0.169	0.007	0.007	0.007
8	TAH-JA	Tahdziu	1	0.161	0.161	0.161	0.005	0.006	0.006
			2	0.165	0.164	0.165	0.007	0.006	0.005
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	1	0.040	0.040	0.038	0.004	0.003	0.004
			2	0.039	0.039	0.038	0.004	0.004	0.004
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	1	0.030	0.031	0.031	0.010	0.010	0.011
			2	0.030	0.031	0.032	0.012	0.011	0.011
12	PE-DZ	Peto	1	0.123	0.122	0.121	0.009	0.010	0.009
			2	0.124	0.124	0.123	0.007	0.008	0.008

Tabla E-3. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 3° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	No. de Prueba	Muestra 284 - Referencia 284			Muestra 336 - Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
13	PE-DZJACHA	Peto	1	0.088	0.090	0.090	0.017	0.018	0.018
			2	0.088	0.089	0.090	0.017	0.017	0.019
14	PE-CHAJA	Peto	1	0.042	0.042	0.042	0.008	0.009	0.008
			2	0.042	0.042	0.043	0.008	0.010	0.009
15	PE-TAVESOL	Peto	1	0.136	0.136	0.136	0.012	0.012	0.012
			2	0.139	0.139	0.140	0.010	0.009	0.008
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	1	0.066	0.065	0.065	0.009	0.008	0.009
			2	0.065	0.064	0.065	0.009	0.009	0.009
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	1	0.243	0.241	0.241	0.016	0.015	0.016
			2	0.243	0.243	0.244	0.013	0.013	0.013
A (18)	COL-CZ	Baja-el salado	1	0.019	0.019	0.019	0.009	0.009	0.010
			2	0.020	0.020	0.019	0.009	0.009	0.010
B (19)	COL-SCE	Baja-el salado	1	0.043	0.043	0.041	0.015	0.016	0.017
			2	0.039	0.039	0.038	0.013	0.015	0.015
C (20)	COL-CAZIO	Media-Vereda Padula	1	0.062	0.062	0.063	0.010	0.009	0.010
			2	0.064	0.065	0.066	0.008	0.009	0.009
D (21)	COL-CZMB	Alta-Canzona	1	0.156	0.157	0.155	0.013	0.013	0.014
			2	0.152	0.152	0.154	0.013	0.013	0.012

Tabla E-4. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 4° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	No. de Prueba	Muestra 284 - Referencia 284			Muestra 336 - Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
1	SIP-PT	Sierra Papacal	1	0.081	0.081	0.081	0.008	0.007	0.008
			2	0.084	0.083	0.084	0.008	0.009	0.010
2	ACEK-DZ	Acanceh	1	0.101	0.101	0.100	0.009	0.008	0.008
			2	0.098	0.098	0.099	0.009	0.009	0.010
3	ACEK-JA	Acanceh	1	0.142	0.143	0.142	0.007	0.008	0.007
			2	0.141	0.141	0.141	0.007	0.007	0.008
4	PIHOL-TD	Pixyah, Holenchen	1	0.132	0.132	0.132	0.009	0.008	0.009
			2	0.133	0.134	0.134	0.006	0.007	0.007
5	PIHOL-DJ	Pixyah, Holenchen	1	0.102	0.100	0.101	0.011	0.011	0.011
			2	0.102	0.102	0.102	0.010	0.010	0.009
6	TAH-BM	Tahdziu	1	0.160	0.160	0.160	0.007	0.007	0.008
			2	0.161	0.159	0.160	0.007	0.006	0.008
7	TAH-DZ	Tahdziu	1	0.170	0.170	0.169	0.006	0.005	0.006
			2	0.170	0.170	0.170	0.008	0.009	0.008
8	TAH-JA	Tahdziu	1	0.167	0.167	0.167	0.007	0.008	0.007
			2	0.167	0.167	0.166	0.006	0.005	0.006
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	1	0.045	0.045	0.044	0.006	0.006	0.005
			2	0.043	0.044	0.043	0.008	0.007	0.008
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	1	0.033	0.033	0.034	0.008	0.008	0.008
			2	0.033	0.035	0.034	0.010	0.009	0.009
12	PE-DZ	Peto	1	0.135	0.136	0.136	0.012	0.013	0.012
			2	0.134	0.134	0.134	0.014	0.015	0.015

Tabla E-4. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 4° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	No. de Prueba	Muestra 284 - Referencia 284			Muestra 336 - Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
13	PE-DZJACHA	Peto	1	0.091	0.090	0.091	0.009	0.009	0.011
			2	0.088	0.088	0.089	0.010	0.010	0.011
14	PE-CHAJA	Peto	1	0.040	0.040	0.041	0.007	0.007	0.008
			2	0.046	0.045	0.045	0.009	0.009	0.009
15	PE-TAVESOL	Peto	1	0.138	0.139	0.139	0.009	0.009	0.009
			2	0.140	0.139	0.139	0.011	0.010	0.009
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	1	0.069	0.069	0.070	0.014	0.014	0.014
			2	0.072	0.072	0.072	0.015	0.015	0.015
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	1	0.246	0.245	0.245	0.013	0.012	0.013
			2	0.246	0.245	0.245	0.013	0.013	0.014
A (18)	COL-CZ	Baja-el salado	1	0.024	0.024	0.025	0.009	0.009	0.009
			2	0.023	0.024	0.024	0.007	0.007	0.007
B (19)	COL-SCE	Baja-el salado	1	0.039	0.037	0.037	0.013	0.013	0.013
			2	0.042	0.041	0.041	0.012	0.013	0.012
C (20)	COL-CAZIO	Media-Vereda Padula	1	0.086	0.086	0.086	0.011	0.013	0.013
			2	0.089	0.089	0.089	0.013	0.012	0.012
D (21)	COL-CZMB	Alta-Canzona	1	0.176	0.176	0.177	0.011	0.012	0.011
			2	0.177	0.176	0.176	0.013	0.013	0.014

Tabla E-5. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 5° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	No. de Prueba	Muestra 284 - Referencia 284			Muestra 336 - Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
1	SIP-PT	Sierra Papacal	1	0.086	0.087	0.087	0.008	0.008	0.008
			2	0.089	0.089	0.089	0.010	0.010	0.009
2	ACEK-DZ	Acanceh	1	0.104	0.104	0.103	0.008	0.009	0.009
			2	0.104	0.104	0.104	0.007	0.007	0.008
3	ACEK-JA	Acanceh	1	0.104	0.104	0.104	0.010	0.010	0.011
			2	0.105	0.105	0.103	0.011	0.011	0.010
4	PIHOL-TD	Pixyah, Holenchen	1	0.142	0.143	0.144	0.011	0.011	0.011
			2	0.145	0.145	0.145	0.012	0.012	0.011
5	PIHOL-DJ	Pixyah, Holenchen	1	0.115	0.115	0.116	0.015	0.015	0.016
			2	0.115	0.115	0.115	0.017	0.017	0.016
6	TAH-BM	Tahdziu	1	0.113	0.114	0.114	0.008	0.007	0.007
			2	0.113	0.112	0.112	0.008	0.008	0.009
7	TAH-DZ	Tahdziu	1	0.130	0.129	0.129	0.007	0.008	0.007
			2	0.129	0.130	0.131	0.007	0.007	0.007
8	TAH-JA	Tahdziu	1	0.117	0.117	0.118	0.009	0.008	0.008
			2	0.117	0.119	0.118	0.009	0.009	0.009
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	1	0.046	0.047	0.047	0.007	0.008	0.007
			2	0.047	0.047	0.047	0.008	0.008	0.008
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	1	0.039	0.038	0.039	0.009	0.010	0.010
			2	0.039	0.040	0.040	0.011	0.011	0.011
12	PE-DZ	Peto	1	0.092	0.092	0.092	0.008	0.008	0.008
			2	0.092	0.091	0.092	0.008	0.009	0.008

Tabla E-5. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 5° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	No. de Prueba	Muestra 284 - Referencia 284			Muestra 336 - Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
13	PE-DZJACHA	Peto	1	0.096	0.098	0.098	0.010	0.010	0.010
			2	0.096	0.096	0.096	0.011	0.011	0.011
14	PE-CHAJA	Peto	1	0.060	0.059	0.060	0.023	0.024	0.023
			2	0.060	0.060	0.060	0.023	0.022	0.022
15	PE-TAVESOL	Peto	1	0.094	0.094	0.093	0.007	0.007	0.008
			2	0.094	0.094	0.094	0.007	0.007	0.007
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	1	0.086	0.086	0.087	0.009	0.009	0.009
			2	0.085	0.085	0.085	0.009	0.008	0.010
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	1	0.171	0.170	0.169	0.014	0.015	0.014
			2	0.171	0.171	0.171	0.013	0.014	0.014
A (18)	COL-CZ	Baja-el salado	1	0.031	0.032	0.032	0.011	0.012	0.011
			2	0.031	0.031	0.031	0.012	0.012	0.013
B (19)	COL-SCE	Baja-el salado	1	0.039	0.039	0.038	0.011	0.011	0.011
			2	0.042	0.041	0.042	0.013	0.013	0.014
C (20)	COL-CAZIO	Media-Vereda Padula	1	0.083	0.084	0.083	0.006	0.007	0.006
			2	0.084	0.084	0.084	0.007	0.007	0.006
D (21)	COL-CZMB	Alta-Canzona	1	0.144	0.143	0.143	0.014	0.015	0.015
			2	0.143	0.143	0.142	0.014	0.015	0.014

Tabla E-6. Valores de absorbancia (Muestra 284 – Referencia 284) y (Muestra 336 – Referencia 336). 6° evaluación.

No. Muestra	Código	Localidad	No. de Prueba	Muestra 284 - Referencia 284			Muestra 336 - Referencia 336		
				Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	1	0.052	0.051	0.050	0.008	0.008	0.009
			2	0.052	0.052	0.052	0.008	0.007	0.008
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	1	0.037	0.037	0.036	0.005	0.004	0.005
			2	0.038	0.039	0.039	0.006	0.006	0.006
12	PE-DZ	Peto	1	0.097	0.097	0.097	0.009	0.008	0.008
			2	0.096	0.096	0.097	0.009	0.010	0.011
13	PE-DZJACHA	Peto	1	0.106	0.107	0.106	0.008	0.007	0.007
			2	0.106	0.106	0.106	0.007	0.008	0.007
14	PE-CHAJA	Peto	1	0.051	0.052	0.051	0.005	0.006	0.006
			2	0.051	0.051	0.051	0.004	0.004	0.004
15	PE-TAVESOL	Peto	1	0.096	0.096	0.096	0.007	0.008	0.009
			2	0.096	0.096	0.096	0.008	0.009	0.009
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	1	0.098	0.098	0.098	0.009	0.009	0.009
			2	0.099	0.098	0.098	0.010	0.011	0.010
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	1	0.184	0.184	0.184	0.025	0.024	0.025
			2	0.185	0.185	0.185	0.026	0.026	0.025

ANEXO F. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*Apis mellifera*) durante sus distintas evaluaciones.

Tabla F-1. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 1° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)					
						Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración total promedio		
1	SIP-PT	Sierra Papacal	12/09/2022	1	2.53	1.72	1.69	1.75	1.82	±	0.12
				2	2.49	1.95	1.95	1.89			
2	ACEK-DZ	Acanceh	12/09/2022	1	2.49	3.58	3.58	3.58	3.69	±	0.13
				2	2.50	3.80	3.83	3.80			
3	ACEK-JA	Acanceh	13/09/2022	1	2.49	3.58	3.58	3.55	3.47	±	0.11
				2	2.49	3.40	3.34	3.37			
4	PIHOL-TD	Pixyah, Holenchen	13/09/2022	1	1.65	5.44	5.44	5.40	5.42	±	0.02
				2	1.66	5.41	5.41	5.41			
5	PIHOL-DJ	Pixyah, Holenchen	13/09/2022	1	2.49	3.94	3.94	3.97	3.84	±	0.12
				2	2.53	3.73	3.73	3.76			
6	TAH-BM	Tahdziu	14/09/2022	1	2.52	3.71	3.68	3.62	3.55	±	0.14
				2	2.51	3.43	3.40	3.43			
7	TAH-DZ	Tahdziu	14/09/2022	1	2.49	3.82	3.82	3.82	3.76	±	0.07
				2	2.51	3.67	3.73	3.70			
8	TAH-JA	Tahdziu	14/09/2022	1	2.49	3.76	3.79	3.76	3.74	±	0.03
				2	2.50	3.71	3.71	3.71			

Tabla F-1. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 1° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)					
						Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración total promedio		
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	20/09/2022	1	2.51	0.75	0.72	0.72	0.70	±	0.03
				2	2.50	0.69	0.66	0.66			
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	20/09/2022	1	2.49	0.42	0.42	0.42	0.47	±	0.06
				2	2.49	0.51	0.51	0.54			
12	PE-DZ	Peto	21/09/2022	1	2.47	3.39	3.36	3.36	3.37	±	0.02
				2	2.50	3.38	3.38	3.35			
13	PE-DZJACHA	Peto	21/09/2022	1	2.50	1.53	1.50	1.53	1.53	±	0.02
				2	2.52	1.51	1.54	1.54			
14	PE-CHAJA	Peto	21/09/2022	1	2.50	0.45	0.45	0.48	0.45	±	0.03
				2	2.48	0.45	0.45	0.39			
15	PE-TAVESOL	Peto	22/09/2022	1	2.48	3.77	3.74	3.74	3.77	±	0.02
				2	2.47	3.76	3.79	3.79			
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	22/09/2022	1	2.52	1.57	1.57	1.63	1.46	±	0.15
				2	2.51	1.31	1.31	1.34			
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	22/09/2022	1	2.51	6.68	6.65	6.68	6.67	±	0.02
				2	2.50	6.65	6.68	6.71			

Tabla F-2. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 2° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)					
						Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración total promedio		
1	SIP-PT	Sierra Papacal	26/09/2022	1	2.47	2.00	2.00	2.00	2.02	±	0.02
				2	2.48	2.02	2.02	2.05			
2	ACEK-DZ	Acanceh	26/09/2022	1	1.66	3.79	3.74	3.79	3.81	±	0.06
				2	1.67	3.81	3.85	3.90			
3	ACEK-JA	Acanceh	26/09/2022	1	2.48	3.95	3.95	3.89	3.83	±	0.12
				2	2.50	3.71	3.71	3.74			
4	PIHOL-TD	Pixyah, Holenchen	26/09/2022	1	1.64	5.20	5.20	5.20	5.22	±	0.04
				2	1.65	5.26	5.17	5.26			
5	PIHOL-DJ	Pixyah, Holenchen	26/09/2022	1	2.49	3.94	4.03	4.00	3.98	±	0.03
				2	2.50	3.95	3.95	3.98			
6	TAH-BM	Tahdziu	26/09/2022	1	2.51	4.06	4.06	4.03	4.02	±	0.03
				2	2.52	3.98	4.01	4.01			
7	TAH-DZ	Tahdziu	27/09/2022	1	2.48	4.62	4.62	4.59	4.59	±	0.03
				2	2.49	4.60	4.60	4.54			
8	TAH-JA	Tahdziu	27/09/2022	1	2.53	4.44	4.38	4.38	4.43	±	0.04
				2	2.51	4.47	4.47	4.44			
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	27/09/2022	1	2.47	0.85	0.85	0.85	0.84	±	0.02
				2	2.50	0.87	0.84	0.81			
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	27/09/2022	1	2.50	0.54	0.57	0.51	0.55	±	0.02
				2	2.49	0.57	0.54	0.54			

Tabla F-2. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 2° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)					
						Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración total promedio		
12	PE-DZ	Peto	27/09/2022	1	2.50	3.50	3.44	3.38	3.40	±	0.06
				2	2.51	3.34	3.34	3.37			
13	PE-DZJACHA	Peto	27/09/2022	1	2.48	1.84	1.87	1.81	1.86	±	0.03
				2	2.50	1.86	1.86	1.92			
14	PE-CHAJA	Peto	28/09/2022	1	2.49	0.72	0.72	0.78	0.73	±	0.03
				2	2.48	0.75	0.69	0.69			
15	PE-TAVESOL	Peto	28/09/2022	1	2.47	3.73	3.76	3.73	3.76	±	0.04
				2	2.49	3.82	3.73	3.82			
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	28/09/2022	1	2.53	1.60	1.60	1.63	1.68	±	0.09
				2	2.48	1.75	1.78	1.75			
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	28/09/2022	1	2.47	6.73	6.73	6.70	6.72	±	0.02
				2	2.50	6.71	6.74	6.71			
A (18)	COL-CZ	Baja-el salado	29/09/2022	1	5.02	0.13	0.12	0.13	0.12	±	0.01
				2	5.04	0.12	0.13	0.10			
B (19)	COL-SCE	Baja-el salado	29/09/2022	1	2.48	0.54	0.51	0.51	0.56	±	0.05
				2	2.48	0.57	0.57	0.63			
C (20)	COL-CAZIO	Media-Vereda Padula	29/09/2022	1	2.52	1.69	1.72	1.69	1.60	±	0.11
				2	2.52	1.49	1.49	1.51			
D (21)	COL-CZMB	Alta-Canzona	29/09/2022	1	2.51	3.88	3.88	3.85	3.90	±	0.04
				2	2.48	3.95	3.95	3.89			

Tabla F-3. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 3° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)					
						Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración total promedio		
1	SIP-PT	Sierra Papacal	10/10/2022	1	2.48	2.08	2.14	2.11	2.08	±	0.04
				2	2.50	2.04	2.04	2.10			
2	ACEK-DZ	Acanceh	10/10/2022	1	1.68	4.01	4.01	4.01	3.98	±	0.03
				2	1.67	3.99	3.94	3.94			
3	ACEK-JA	Acanceh	10/10/2022	1	2.50	4.01	3.95	4.01	3.97	±	0.04
				2	2.50	3.95	3.92	3.95			
4	PIHOL-TD	Pixyah, Holenchen	10/10/2022	1	1.66	5.73	5.73	5.68	5.63	±	0.09
				2	1.65	5.58	5.53	5.53			
5	PIHOL-DJ	Pixyah, Holenchen	10/10/2022	1	2.49	4.03	4.06	4.06	4.00	±	0.05
				2	2.48	3.95	3.95	3.95			
6	TAH-BM	Tahdziu	10/10/2022	1	2.50	4.49	4.49	4.49	4.47	±	0.02
				2	2.51	4.44	4.44	4.47			
7	TAH-DZ	Tahdziu	10/10/2022	1	2.48	4.83	4.83	4.80	4.84	±	0.03
				2	2.49	4.87	4.87	4.87			
8	TAH-JA	Tahdziu	11/10/2022	1	2.49	4.69	4.66	4.66	4.71	±	0.05
				2	2.50	4.73	4.73	4.79			
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	11/10/2022	1	2.47	1.09	1.12	1.03	1.06	±	0.04
				2	2.49	1.05	1.05	1.02			
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	11/10/2022	1	2.47	0.61	0.64	0.61	0.60	±	0.03
				2	2.48	0.54	0.60	0.63			

Tabla F-3. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 3° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)					
						Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración total promedio		
12	PE-DZ	Peto	11/10/2022	1	2.47	3.45	3.39	3.39	3.45	±	0.05
				2	2.49	3.52	3.49	3.46			
13	PE-DZJACHA	Peto	11/10/2022	1	2.53	2.10	2.13	2.13	2.12	±	0.02
				2	2.51	2.12	2.15	2.12			
14	PE-CHAJA	Peto	13/10/2022	1	2.53	1.01	0.98	1.01	0.99	±	0.02
				2	2.52	1.01	0.95	1.01			
15	PE-TAVESOL	Peto	13/10/2022	1	2.48	3.74	3.74	3.74	3.83	±	0.10
				2	2.49	3.88	3.91	3.97			
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	13/10/2022	1	2.49	1.71	1.71	1.68	1.69	±	0.03
				2	2.50	1.68	1.65	1.68			
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	13/10/2022	1	2.51	6.77	6.74	6.71	6.79	±	0.06
				2	2.52	6.83	6.83	6.86			
A (18)	COL-CZ	Baja-el salado	13/10/2022	1	5.02	0.15	0.15	0.13	0.15	±	0.01
				2	5.06	0.16	0.16	0.13			
B (19)	COL-SCE	Baja-el salado	13/10/2022	1	2.52	0.83	0.80	0.71	0.75	±	0.06
				2	2.51	0.78	0.72	0.69			
C (20)	COL-CAZIO	Media-Vereda Padula	13/10/2022	1	2.52	1.54	1.57	1.57	1.63	±	0.07
				2	2.50	1.68	1.68	1.71			
D (21)	COL-CZMB	Alta-Canzona	13/10/2022	1	2.51	4.26	4.29	4.20	4.22	±	0.06
				2	2.50	4.16	4.16	4.25			

Tabla F-4. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 4° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)					
						Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración total promedio		
1	SIP-PT	Sierra Papacal	24/10/2022	1	2.50	2.19	2.22	2.19	2.22	±	0.03
				2	2.50	2.28	2.22	2.22			
2	ACEK-DZ	Acanceh	24/10/2022	1	1.65	4.17	4.22	4.17	4.10	±	0.10
				2	1.66	4.01	4.01	4.01			
3	ACEK-JA	Acanceh	24/10/2022	1	2.48	4.07	4.07	4.07	4.06	±	0.02
				2	2.47	4.06	4.06	4.03			
4	PIHOL-TD	Pixyah, Holenchen	24/10/2022	1	1.66	5.55	5.59	5.55	5.68	±	0.13
				2	1.64	5.80	5.80	5.80			
5	PIHOL-DJ	Pixyah, Holenchen	24/10/2022	1	1.65	4.13	4.04	4.08	4.12	±	0.06
				2	1.66	4.15	4.15	4.19			
6	TAH-BM	Tahdziu	24/10/2022	1	2.50	4.58	4.58	4.55	4.57	±	0.02
				2	2.51	4.59	4.56	4.53			
7	TAH-DZ	Tahdziu	25/10/2022	1	2.48	4.95	4.98	4.92	4.90	±	0.05
				2	2.49	4.87	4.84	4.87			
8	TAH-JA	Tahdziu	25/10/2022	1	2.52	4.75	4.72	4.75	4.77	±	0.04
				2	2.51	4.80	4.83	4.77			
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	25/10/2022	1	2.51	1.16	1.16	1.16	1.12	±	0.06
				2	2.50	1.05	1.11	1.05			
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	25/10/2022	1	2.51	0.75	0.75	0.78	0.74	±	0.03
				2	2.52	0.68	0.77	0.74			

Tabla F-4. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 4° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)					
						Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración total promedio		
12	PE-DZ	Peto	25/10/2022	1	2.51	3.67	3.67	3.70	3.63	±	0.06
				2	2.50	3.59	3.56	3.56			
13	PE-DZJACHA	Peto	25/10/2022	1	2.51	2.45	2.42	2.39	2.36	±	0.06
				2	2.53	2.31	2.31	2.31			
14	PE-CHAJA	Peto	26/10/2022	1	2.50	0.99	0.99	0.99	1.03	±	0.05
				2	2.52	1.10	1.07	1.07			
15	PE-TAVESOL	Peto	26/10/2022	1	2.52	3.83	3.86	3.86	3.85	±	0.02
				2	2.51	3.85	3.85	3.88			
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	26/10/2022	1	2.51	1.64	1.64	1.67	1.68	±	0.03
				2	2.50	1.71	1.71	1.71			
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	26/10/2022	1	2.49	7.00	7.00	6.97	6.98	±	0.02
				2	2.49	7.00	6.97	6.94			
A (18)	COL-CZ	Baja-el salado	27/10/2022	1	5.01	0.22	0.22	0.24	0.24	±	0.01
				2	5.03	0.24	0.25	0.25			
B (19)	COL-SCE	Baja-el salado	27/10/2022	1	2.51	0.78	0.72	0.72	0.80	±	0.08
				2	2.49	0.90	0.84	0.87			
C (20)	COL-CAZIO	Media-Vereda Padula	27/10/2022	1	2.49	2.25	2.19	2.19	2.25	±	0.05
				2	2.50	2.28	2.31	2.31			
D (21)	COL-CZMB	Alta-Canzona	27/10/2022	1	2.51	4.92	4.89	4.95	4.90	±	0.03
				2	2.50	4.91	4.88	4.85			

Tabla F-5. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 5° evaluación. (hoja 1 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)					
						Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración total promedio		
1	SIP-PT	Sierra Papacal	07/11/2022	1	2.51	2.33	2.36	2.36	2.36	±	0.02
				2	2.50	2.37	2.37	2.40			
2	ACEK-DZ	Acanceh	07/11/2022	1	1.66	4.33	4.28	4.24	4.32	±	0.05
				2	1.66	4.37	4.37	4.33			
3	ACEK-JA	Acanceh	07/11/2022	1	1.66	4.24	4.24	4.19	4.24	±	0.03
				2	1.65	4.26	4.26	4.22			
4	PIHOL-TD	Pixyah, Holenchen	07/11/2022	1	1.67	5.87	5.92	5.96	5.96	±	0.06
				2	1.66	6.00	6.00	6.04			
5	PIHOL-DJ	Pixyah, Holenchen	07/11/2022	1	1.68	4.46	4.46	4.46	4.44	±	0.02
				2	1.66	4.42	4.42	4.46			
6	TAH-BM	Tahdziu	07/11/2022	1	1.67	4.71	4.80	4.80	4.73	±	0.06
				2	1.66	4.73	4.69	4.64			
7	TAH-DZ	Tahdziu	08/11/2022	1	1.66	5.55	5.46	5.50	5.51	±	0.04
				2	1.67	5.47	5.51	5.56			
8	TAH-JA	Tahdziu	08/11/2022	1	1.67	4.84	4.89	4.93	4.89	±	0.04
				2	1.67	4.84	4.93	4.89			
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	08/11/2022	1	2.51	1.16	1.16	1.19	1.17	±	0.01
				2	2.50	1.17	1.17	1.17			
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	08/11/2022	1	2.49	0.90	0.84	0.87	0.87	±	0.02
				2	2.50	0.84	0.87	0.87			

Tabla F-5. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 5° evaluación. (hoja 2 de 2)

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)					
						Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración total promedio		
12	PE-DZ	Peto	08/11/2022	1	1.65	3.81	3.81	3.81	3.78	±	0.04
				2	1.66	3.79	3.70	3.79			
13	PE-DZJACHA	Peto	08/11/2022	1	2.53	2.54	2.60	2.60	2.56	±	0.03
				2	2.51	2.53	2.53	2.53			
14	PE-CHAJA	Peto	09/11/2022	1	2.49	1.11	1.05	1.11	1.11	±	0.03
				2	2.48	1.12	1.15	1.15			
15	PE-TAVESOL	Peto	09/11/2022	1	1.67	3.90	3.90	3.81	3.90	±	0.04
				2	1.66	3.92	3.92	3.92			
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	09/11/2022	1	2.51	2.30	2.30	2.33	2.29	±	0.03
				2	2.50	2.28	2.31	2.25			
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	09/11/2022	1	1.65	7.12	7.03	7.03	7.06	±	0.04
				2	1.67	7.08	7.04	7.04			
A (18)	COL-CZ	Baja-el salado	10/11/2022	1	5.01	0.30	0.30	0.31	0.29	±	0.02
				2	5.03	0.28	0.28	0.27			
B (19)	COL-SCE	Baja-el salado	10/11/2022	1	2.48	0.85	0.85	0.81	0.84	±	0.02
				2	2.50	0.87	0.84	0.84			
C (20)	COL-CAZIO	Media-Vereda Padula	10/11/2022	1	2.51	2.30	2.30	2.30	2.30	±	0.01
				2	2.52	2.29	2.29	2.32			
D (21)	COL-CZMB	Alta-Canzona	10/11/2022	1	1.66	5.86	5.77	5.77	5.81	±	0.04
				2	1.65	5.85	5.81	5.81			

Tabla F-6. Resultados de concentración HMF (mg/100 g) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 6° evaluación.

No. Muestra	Código	Localidad	Fecha de determinación	No. Prueba	Peso (g)	HMF (mg/ 100 g)					
						Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración total promedio		
9	POTI-DZ	Popolnah, Tizimín	15/11/2022	1	2.50	1.32	1.29	1.23	1.30	±	0.04
				2	2.50	1.32	1.35	1.32			
11	POTI-TX	Popolnah, Tizimín	15/11/2022	1	2.51	0.95	0.98	0.92	0.96	±	0.02
				2	2.52	0.95	0.98	0.98			
12	PE-DZ	Peto	15/11/2022	1	1.66	3.97	4.01	4.01	3.96	±	0.05
				2	1.65	3.95	3.90	3.90			
13	PE-DZJACHA	Peto	15/11/2022	1	2.53	2.90	2.96	2.93	2.93	±	0.02
				2	2.52	2.94	2.91	2.94			
14	PE-CHAJA	Peto	16/11/2022	1	2.52	1.37	1.37	1.34	1.38	±	0.03
				2	2.50	1.41	1.41	1.41			
15	PE-TAVESOL	Peto	16/11/2022	1	1.65	4.04	3.99	3.95	3.99	±	0.03
				2	1.64	4.02	3.97	3.97			
C1 (16)	COL-CR	San Jacinto, Bolívar	16/11/2022	1	2.52	2.64	2.64	2.64	2.63	±	0.02
				2	2.51	2.65	2.59	2.62			
C2 (17)	COL-DP	San Jacinto, Bolívar	16/11/2022	1	1.66	7.17	7.21	7.17	7.16	±	0.03
				2	1.67	7.13	7.13	7.17			

ANEXO G. ANOVAS de la concentración inicial y final del contenido HMF (mg/100 g) en las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	124.461	19	6.55058	656.54	0.0000
Intra grupos	0.19955	20	0.0099775		
Total (Corr.)	124.661	39			

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
COL-CZ	2	0.125	X
PE-CHAJA	2	0.445	X
POTI-TX	2	0.47	X
COL-SCE	2	0.555	XX
POTI-DZ	2	0.7	X
COL-CR	2	1.455	X
PE-DZJACHA	2	1.525	X
COL-CAZIO	2	1.6	X
SIP-PT	2	1.825	X
PE-DZ	2	3.37	X
ACEK-JA	2	3.47	X
TAH-BM	2	3.545	XX
ACEK-DZ	2	3.695	XX
TAH-JA	2	3.74	XX
TAH-DZ	2	3.76	X
PE-TAVESOL	2	3.765	X
PIHOL-DJ	2	3.845	X
COL-CZMB	2	3.9	X
PIHOL-TD	2	5.42	X
COL-DP	2	6.675	X

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	143.473	19	7.55119	7865.82	0.0000
Intra grupos	0.0192	20	0.00096		
Total (Corr.)	143.492	39			

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
COL-CZ	2	0.29	X
COL-SCE	2	0.845	X
POTI-TX	2	0.96	X
POTI-DZ	2	1.305	X
PE-CHAJA	2	1.385	X
COL-CAZIO	2	2.3	X
SIP-PT	2	2.365	X
COL-CR	2	2.63	X
PE-DZJACHA	2	2.93	X
PE-DZ	2	3.96	X
PE-TAVESOL	2	3.99	X
ACEK-JA	2	4.235	X
ACEK-DZ	2	4.32	X
PIHOL-DJ	2	4.445	X
TAH-BM	2	4.73	X
TAH-JA	2	4.89	X
TAH-DZ	2	5.505	X
COL-CZMB	2	5.81	X
PIHOL-TD	2	5.965	X
COL-DP	2	7.16	X

Figura G-1. Análisis de varianza simple (ANOVAS) de la concentración inicial y final del contenido HMF (mg/100 g) de las muestras de miel analizadas.
Descripción: Derecha (ANOVA y tabla de múltiples rangos de la concentración inicial), Izquierda (ANOVA y tabla de múltiples rangos de la concentración final).

ANEXO H. ANOVAS de las concentraciones HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas en sus distintas evaluaciones.

SIP-PT					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.33536	4	0.08384	16.77	0.0042
Intra grupos	0.025	5	0.005		
Total (Corr.)	0.36036	9			
SIP-PT	Casos	Media	Grupos Homogéneos		
C1	2	1.825	X		
C2	2	2.015	X		
C3	2	2.085	XX		
C4	2	2.22	XX		
C5	2	2.365	X		

ACEK-JA					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.66394	4	0.165985	18.88	0.0032
Intra grupos	0.04395	5	0.00879		
Total (Corr.)	0.70789	9			
ACEK-JA	Casos	Media	Grupos Homogéneos		
C1	2	3.47	X		
C2	2	3.825	X		
C3	2	3.965	X		
C4	2	4.06	XX		
C5	2	4.235	X		

ACEK-DZ					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.48026	4	0.120065	11.93	0.0090
Intra grupos	0.0503	5	0.01006		
Total (Corr.)	0.53056	9			
ACEK-DZ	Casos	Media	Grupos Homogéneos		
C1	2	3.695	X		
C2	2	3.81	XX		
C3	2	3.985	XX		
C4	2	4.1	XX		
C5	2	4.32	X		

PIHOL-TD					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.63906	4	0.159765	17.25	0.0040
Intra grupos	0.0463	5	0.00926		
Total (Corr.)	0.68536	9			
PIHOL-TD	Casos	Media	Grupos Homogéneos		
C2	2	5.215	X		
C1	2	5.42	XX		
C3	2	5.63	XX		
C4	2	5.68	X		
C5	2	5.965	X		

Figura H-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos de la concentración HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel analizadas en sus distintas evaluaciones. (hoja 1 de 5)

PIHOL-DJ					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.41486	4	0.103715	16.65	0.0043
Intra grupos	0.03115	5	0.00623		
Total (Corr.)	0.44601	9			

PIHOL-DJ	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	3.845	X
C2	2	3.975	XX
C3	2	4.0	XX
C4	2	4.12	X
C5	2	4.445	X

TAH-BM					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.84846	4	0.462115	63.22	0.0002
Intra grupos	0.03655	5	0.00731		
Total (Corr.)	1.88501	9			

TAH-BM	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	3.545	X
C2	2	4.025	X
C3	2	4.47	X
C4	2	4.565	XX
C5	2	4.73	X

TAH-DZ					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3.20656	4	0.80164	308.32	0.0000
Intra grupos	0.013	5	0.0026		
Total (Corr.)	3.21956	9			

TAH-DZ	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	3.76	X
C2	2	4.595	X
C3	2	4.845	X
C4	2	4.905	X
C5	2	5.505	X

TAH-JA					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.70256	4	0.42564	247.47	0.0000
Intra grupos	0.0086	5	0.00172		
Total (Corr.)	1.71116	9			

TAH-JA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	3.74	X
C2	2	4.43	X
C3	2	4.71	X
C4	2	4.77	X
C5	2	4.89	X

Figura H-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos de la concentración HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel analizadas en sus distintas evaluaciones. (hoja 2 de 5)

POTI-DZ					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.492875	5	0.098575	74.40	0.0000
Intra grupos	0.00795	6	0.001325		
Total (Corr.)	0.500825	11			

POTI-DZ	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	0.7	X
C2	2	0.845	X
C3	2	1.06	X
C4	2	1.115	XX
C5	2	1.17	X
C6	2	1.305	X

POTI-TX					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.365567	5	0.0731133	70.75	0.0000
Intra grupos	0.0062	6	0.00103333		
Total (Corr.)	0.371767	11			

POTI-TX	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	0.47	X
C2	2	0.545	XX
C3	2	0.605	X
C4	2	0.745	X
C5	2	0.865	X
C6	2	0.96	X

PE-DZ					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.563675	5	0.112735	38.11	0.0002
Intra grupos	0.01775	6	0.00295833		
Total (Corr.)	0.581425	11			

PE-DZ	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	3.37	X
C2	2	3.395	X
C3	2	3.45	X
C4	2	3.625	X
C5	2	3.785	X
C6	2	3.96	X

PE-DZJACHA					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2.51747	5	0.503493	368.41	0.0000
Intra grupos	0.0082	6	0.00136667		
Total (Corr.)	2.52567	11			

PE-DZJACHA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	1.525	X
C2	2	1.86	X
C3	2	2.125	X
C4	2	2.365	X
C5	2	2.555	X
C6	2	2.93	X

Figura H-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos de la concentración HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel analizadas en sus distintas evaluaciones. (hoja 3 de 5)

PE-CHAJA					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.0627	5	0.21254	170.03	0.0000
Intra grupos	0.0075	6	0.00125		
Total (Corr.)	1.0702	11			

PE-CHAJA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	0.445	X
C2	2	0.725	X
C3	2	0.995	X
C4	2	1.035	XX
C5	2	1.115	X
C6	2	1.385	X

PE-TAVESOL					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.073	5	0.0146	4.56	0.0460
Intra grupos	0.0192	6	0.0032		
Total (Corr.)	0.0922	11			

PE-TAVESOL	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	3.765	X
C2	2	3.765	X
C3	2	3.83	X
C4	2	3.855	XX
C5	2	3.895	XX
C6	2	3.99	X

COL-CR					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2.0553	5	0.41106	48.74	0.0001
Intra grupos	0.0506	6	0.00843333		
Total (Corr.)	2.1059	11			

COL-CR	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	1.455	X
C4	2	1.68	X
C3	2	1.685	X
C2	2	1.685	X
C5	2	2.295	X
C6	2	2.63	X

COL-DP					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.386167	5	0.0772333	75.97	0.0000
Intra grupos	0.0061	6	0.00101667		
Total (Corr.)	0.392267	11			

COL-DP	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	2	6.675	X
C2	2	6.72	XX
C3	2	6.79	X
C4	2	6.98	X
C5	2	7.055	X
C6	2	7.16	X

Figura H-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos de la concentración HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel analizadas en sus distintas evaluaciones. (hoja 4 de 5)



Figura H-1. Análisis de varianza simple (ANOVA) y tabla de múltiples rangos de la concentración HMF (mg/100 g) de cada una de las muestras de miel analizadas en sus distintas evaluaciones. (hoja 5 de 5)

ANEXO I. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (*Apis mellifera*) durante sus distintas evaluaciones.

Tabla I-1. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 1° evaluación.

No. De muestra	Código	Fecha de determinación	Masa de la miel (g)	Volumen de la disolución (ml)	Factor de dilución	Abs. 1 a 550 nm	Abs. 2 a 550 nm	Concentración 1 (g/L)	Concentración 2 (g/L)	Concentración 1 total (g/L)	Concentración 2 total (g/L)	Concentración total promedio (g/L)	Porcentaje de ARD en miel (%(w/v))
1	SIP-PT	12/09/2022	0.1016	100	984	0.537	0.538	0.69	0.70	684	685	684 ± 0.79	68.4%
2	ACEK-DZ	12/09/2022	0.1045	100	957	0.617	0.612	0.78	0.78	751	746	748 ± 3.83	74.8%
3	ACEK-JA	13/09/2022	0.1030	100	971	0.616	0.618	0.78	0.79	761	763	762 ± 1.55	76.2%
4	PIHOL-TD	13/09/2022	0.1020	100	980	0.600	0.604	0.77	0.77	751	755	753 ± 3.14	75.3%
5	PIHOL-DJ	13/09/2022	0.1015	100	985	0.549	0.547	0.71	0.71	698	695	696 ± 1.58	69.6%
6	TAH-BM	14/09/2022	0.1045	100	957	0.722	0.724	0.90	0.91	865	867	866 ± 1.53	86.6%
7	TAH-DZ	14/09/2022	0.1003	100	997	0.680	0.682	0.86	0.86	854	856	855 ± 1.60	85.5%
8	TAH-JA	14/09/2022	0.1033	100	968	0.690	0.692	0.87	0.87	840	842	841 ± 1.55	84.1%
9	POTI-DZ	20/09/2022	0.1050	100	952	0.612	0.615	0.78	0.78	742	745	744 ± 2.29	74.4%
11	POTI-TX	20/09/2022	0.1033	100	968	0.631	0.633	0.80	0.80	775	777	776 ± 1.55	77.6%
12	PE-DZ	21/09/2022	0.1018	100	982	0.592	0.595	0.76	0.76	743	747	745 ± 2.36	74.5%
13	PE-DZJACHA	21/09/2022	0.1000	100	1000	0.589	0.591	0.75	0.76	753	756	754 ± 1.60	75.4%
14	PE-CHAJA	21/09/2022	0.1005	100	995	0.608	0.612	0.77	0.78	771	775	773 ± 3.18	77.3%
15	PE-TAVESOL	22/09/2022	0.1002	100	998	0.550	0.548	0.71	0.71	708	706	707 ± 1.60	70.7%
C1 (16)	COL-CR	22/09/2022	0.1013	100	987	0.542	0.544	0.70	0.70	691	693	692 ± 1.58	69.2%
C2 (17)	COL-DP	22/09/2022	0.0998	100	1002	0.645	0.648	0.82	0.82	818	822	820 ± 2.41	82.0%

Tabla I-2. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 2° evaluación.

No. De muestra	Código	Fecha de determinación	Masa de la miel (g)	Volumen de la disolución (ml)	Factor de dilución	Abs. 1 a 550 nm	Abs. 2 a 550 nm	Concentración 1 (g/L)	Concentración 2 (g/L)	Concentración 1 total (g/L)	Concentración 2 total (g/L)	Concentración total promedio (g/L)		Porcentaje de ARD en miel (%(w/v))
1	SIP-PT	30/09/2022	0.1016	100	984	0.524	0.520	0.67	0.67	664	659	662	± 3.16	66.2%
2	ACEK-DZ	30/09/2022	0.1027	100	974	0.596	0.594	0.76	0.75	737	734	735	± 1.57	73.5%
3	ACEK-JA	30/09/2022	0.1010	100	990	0.600	0.602	0.76	0.76	753	756	755	± 1.59	75.5%
4	PIHOL-TD	30/09/2022	0.1030	100	971	0.604	0.602	0.77	0.76	743	741	742	± 1.56	74.2%
5	PIHOL-DJ	30/09/2022	0.1032	100	969	0.552	0.554	0.71	0.71	684	687	686	± 1.56	68.6%
6	TAH-BM	30/09/2022	0.1006	100	994	0.682	0.684	0.85	0.86	849	851	850	± 1.60	85.0%
7	TAH-DZ	30/09/2022	0.1017	100	983	0.670	0.673	0.84	0.84	826	830	828	± 2.37	82.8%
8	TAH-JA	30/09/2022	0.1018	100	982	0.676	0.677	0.85	0.85	832	833	833	± 0.79	83.3%
9	POTI-DZ	30/09/2022	0.1001	100	999	0.576	0.579	0.73	0.74	733	736	735	± 2.41	73.5%
11	POTI-TX	30/09/2022	0.1000	100	1000	0.605	0.607	0.77	0.77	767	769	768	± 1.61	76.8%
12	PE-DZ	30/09/2022	0.1001	100	999	0.582	0.585	0.74	0.74	740	743	741	± 2.41	74.1%
13	PE-DZJACHA	30/09/2022	0.1019	100	981	0.583	0.585	0.74	0.74	728	730	729	± 1.58	72.9%
14	PE-CHAJA	30/09/2022	0.1015	100	985	0.605	0.602	0.77	0.76	755	752	754	± 2.38	75.4%
15	PE-TAVESOL	30/09/2022	0.1027	100	974	0.567	0.562	0.72	0.72	704	699	702	± 3.91	70.2%
C1 (16)	COL-CR	30/09/2022	0.1013	100	987	0.534	0.531	0.69	0.68	677	674	675	± 2.38	67.5%
C2 (17)	COL-DP	30/09/2022	0.0998	100	1002	0.651	0.647	0.82	0.81	821	816	818	± 3.22	81.8%
A (18)	COL-CZ	30/09/2022	0.1004	100	996	0.635	0.637	0.80	0.80	798	800	799	± 1.60	79.9%
B (19)	COL-SCE	30/09/2022	0.1019	100	981	0.598	0.603	0.76	0.76	745	750	747	± 3.94	74.7%
C (20)	COL-CAZIO	30/09/2022	0.1009	100	991	0.574	0.576	0.73	0.73	725	727	726	± 1.59	72.6%
D (21)	COL-CZMB	30/09/2022	0.1005	100	995	0.688	0.685	0.86	0.86	857	853	855	± 2.40	85.5%

Tabla I-3. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 3° evaluación.

No. De muestra	Código	Fecha de determinación	Masa de la miel (g)	Volumen de la disolución (ml)	Factor de dilución	Abs. 1 a 550 nm	Abs. 2 a 550 nm	Concentración 1 (g/L)	Concentración 2 (g/L)	Concentración 1 total (g/L)	Concentración 2 total (g/L)	Concentración total promedio (g/L)		Porcentaje de ARD en miel (%(w/v))
1	SIP-PT	14/10/2022	0.0998	100	1002	0.502	0.496	0.65	0.65	656	649	653	± 4.83	65.3%
2	ACEK-DZ	14/10/2022	0.1016	100	984	0.575	0.572	0.74	0.73	726	723	725	± 2.37	72.5%
3	ACEK-JA	14/10/2022	0.1013	100	987	0.590	0.592	0.75	0.76	745	747	746	± 1.59	74.6%
4	PIHOL-TD	14/10/2022	0.1007	100	993	0.574	0.576	0.74	0.74	732	734	733	± 1.60	73.3%
5	PIHOL-DJ	14/10/2022	0.1020	100	980	0.538	0.535	0.70	0.69	682	679	680	± 2.36	68.0%
6	TAH-BM	14/10/2022	0.1014	100	986	0.660	0.663	0.83	0.84	823	826	825	± 2.38	82.5%
7	TAH-DZ	14/10/2022	0.1007	100	993	0.640	0.637	0.81	0.81	806	803	804	± 2.39	80.4%
8	TAH-JA	14/10/2022	0.1005	100	995	0.636	0.630	0.81	0.80	803	796	800	± 4.80	80.0%
9	POTI-DZ	14/10/2022	0.1009	100	991	0.547	0.551	0.71	0.71	700	704	702	± 3.19	70.2%
11	POTI-TX	14/10/2022	0.1022	100	978	0.580	0.582	0.74	0.75	728	730	729	± 1.57	72.9%
12	PE-DZ	14/10/2022	0.1007	100	993	0.578	0.574	0.74	0.74	736	732	734	± 3.19	73.4%
13	PE-DZJACHA	14/10/2022	0.1004	100	996	0.552	0.556	0.71	0.72	709	713	711	± 3.20	71.1%
14	PE-CHAJA	14/10/2022	0.1004	100	996	0.550	0.554	0.71	0.71	707	711	709	± 3.20	70.9%
15	PE-TAVESOL	14/10/2022	0.1002	100	998	0.540	0.535	0.70	0.69	697	691	694	± 4.01	69.4%
C1 (16)	COL-CR	14/10/2022	0.1007	100	993	0.525	0.527	0.68	0.68	676	679	677	± 1.60	67.7%
C2 (17)	COL-DP	14/10/2022	0.1004	100	996	0.638	0.634	0.81	0.80	806	802	804	± 3.20	80.4%
A (18)	COL-CZ	14/10/2022	0.1006	100	994	0.611	0.608	0.78	0.78	774	771	772	± 2.40	77.2%
B (19)	COL-SCE	14/10/2022	0.1000	100	1000	0.562	0.564	0.72	0.73	723	725	724	± 1.61	72.4%
C (20)	COL-CAZIO	14/10/2022	0.1000	100	1000	0.545	0.540	0.70	0.70	704	698	701	± 4.02	70.1%
D (21)	COL-CZMB	14/10/2022	0.1014	100	986	0.625	0.630	0.79	0.80	784	789	787	± 3.96	78.7%

Tabla I-4. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 4° evaluación.

No. De muestra	Código	Fecha de determinación	Masa de la miel (g)	Volumen de la disolución (ml)	Factor de dilución	Abs. 1 a 550 nm	Abs. 2 a 550 nm	Concentración 1 (g/L)	Concentración 2 (g/L)	Concentración 1 total (g/L)	Concentración 2 total (g/L)	Concentración total promedio (g/L)		Porcentaje de ARD en miel (%(w/v))
1	SIP-PT	28/10/2022	0.1009	100	991	0.482	0.478	0.64	0.64	635	631	633	± 3.17	63.3%
2	ACEK-DZ	28/10/2022	0.1004	100	996	0.562	0.566	0.73	0.74	728	733	730	± 3.18	73.0%
3	ACEK-JA	28/10/2022	0.1013	100	987	0.580	0.583	0.75	0.75	742	745	743	± 2.37	74.3%
4	PIHOL-TD	28/10/2022	0.1018	100	982	0.557	0.559	0.73	0.73	713	715	714	± 1.57	71.4%
5	PIHOL-DJ	28/10/2022	0.1011	100	989	0.509	0.506	0.67	0.67	664	661	662	± 2.37	66.2%
6	TAH-BM	28/10/2022	0.1007	100	993	0.622	0.625	0.80	0.80	793	797	795	± 2.38	79.5%
7	TAH-DZ	28/10/2022	0.1000	100	1000	0.598	0.593	0.77	0.77	772	766	769	± 4.00	76.9%
8	TAH-JA	28/10/2022	0.1007	100	993	0.614	0.610	0.79	0.79	784	780	782	± 3.17	78.2%
9	POTI-DZ	28/10/2022	0.1003	100	997	0.517	0.522	0.68	0.69	678	684	681	± 3.98	68.1%
11	POTI-TX	28/10/2022	0.1001	100	999	0.519	0.522	0.68	0.69	682	685	684	± 2.39	68.4%
12	PE-DZ	28/10/2022	0.1007	100	993	0.554	0.550	0.72	0.72	717	713	715	± 3.17	71.5%
13	PE-DZJACHA	28/10/2022	0.0998	100	1002	0.529	0.532	0.69	0.70	695	699	697	± 2.40	69.7%
14	PE-CHAJA	28/10/2022	0.0999	100	1001	0.506	0.510	0.67	0.67	668	673	671	± 3.20	67.1%
15	PE-TAVESOL	28/10/2022	0.1020	100	980	0.538	0.536	0.70	0.70	690	688	689	± 1.57	68.9%
C1 (16)	COL-CR	28/10/2022	0.1007	100	993	0.504	0.507	0.67	0.67	661	664	663	± 2.38	66.3%
C2 (17)	COL-DP	28/10/2022	0.1011	100	989	0.622	0.626	0.80	0.80	790	795	792	± 3.16	79.2%
A (18)	COL-CZ	28/10/2022	0.1010	100	990	0.524	0.530	0.69	0.69	681	688	685	± 4.75	68.5%
B (19)	COL-SCE	28/10/2022	0.1015	100	985	0.538	0.541	0.70	0.71	694	697	695	± 2.36	69.5%
C (20)	COL-CAZIO	28/10/2022	0.1015	100	985	0.515	0.513	0.68	0.68	668	666	667	± 1.57	66.7%
D (21)	COL-CZMB	28/10/2022	0.1015	100	985	0.589	0.584	0.76	0.76	750	745	748	± 3.94	74.8%

Tabla I-5. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 5° evaluación.

No. De muestra	Código	Fecha de determinación	Masa de la miel (g)	Volumen de la disolución (ml)	Factor de dilución	Abs. 1 a 550 nm	Abs. 2 a 550 nm	Concentración 1 (g/L)	Concentración 2 (g/L)	Concentración 1 total (g/L)	Concentración 2 total (g/L)	Concentración total promedio (g/L)		Porcentaje de ARD en miel (%(w/v))
1	SIP-PT	11/11/2022	0.1006	100	994	0.462	0.457	0.61	0.61	607	601	604	± 3.95	60.4%
2	ACEK-DZ	11/11/2022	0.1003	100	997	0.530	0.535	0.69	0.69	685	691	688	± 3.97	68.8%
3	ACEK-JA	11/11/2022	0.1000	100	1000	0.543	0.547	0.70	0.71	702	706	704	± 3.18	70.4%
4	PIHOL-TD	11/11/2022	0.1000	100	1000	0.541	0.548	0.70	0.71	700	707	704	± 5.57	70.4%
5	PIHOL-DJ	11/11/2022	0.1009	100	991	0.507	0.512	0.66	0.67	655	661	658	± 3.94	65.8%
6	TAH-BM	11/11/2022	0.0999	100	1001	0.622	0.617	0.79	0.79	792	786	789	± 3.98	78.9%
7	TAH-DZ	11/11/2022	0.1002	100	998	0.587	0.593	0.75	0.76	750	757	753	± 4.76	75.3%
8	TAH-JA	11/11/2022	0.1008	100	992	0.597	0.603	0.76	0.77	757	763	760	± 4.74	76.0%
9	POTI-DZ	11/11/2022	0.1002	100	998	0.490	0.493	0.64	0.65	641	644	643	± 2.38	64.3%
11	POTI-TX	11/11/2022	0.1001	100	999	0.435	0.440	0.58	0.59	580	585	583	± 3.97	58.3%
12	PE-DZ	11/11/2022	0.1000	100	1000	0.524	0.528	0.68	0.68	680	685	683	± 3.18	68.3%
13	PE-DZJACHA	11/11/2022	0.1000	100	1000	0.514	0.519	0.67	0.67	669	675	672	± 3.98	67.2%
14	PE-CHAJA	11/11/2022	0.1004	100	996	0.476	0.472	0.63	0.62	624	619	622	± 3.17	62.2%
15	PE-TAVESOL	11/11/2022	0.1006	100	994	0.530	0.526	0.69	0.68	683	679	681	± 3.16	68.1%
C1 (16)	COL-CR	11/11/2022	0.1008	100	992	0.480	0.477	0.63	0.63	626	623	624	± 2.37	62.4%
C2 (17)	COL-DP	11/11/2022	0.1015	100	985	0.620	0.625	0.79	0.79	777	782	780	± 3.92	78.0%
A (18)	COL-CZ	11/11/2022	0.1014	100	986	0.506	0.510	0.66	0.66	651	656	653	± 3.14	65.3%
B (19)	COL-SCE	11/11/2022	0.1000	100	1000	0.512	0.508	0.67	0.66	667	662	665	± 3.18	66.5%
C (20)	COL-CAZIO	11/11/2022	0.1012	100	988	0.498	0.493	0.65	0.65	643	638	641	± 3.93	64.1%
D (21)	COL-CZMB	11/11/2022	0.1011	100	989	0.560	0.564	0.72	0.73	713	718	715	± 3.15	71.5%

Tabla I-6. Resultados del contenido ARD (g/L) encontrados en las muestras de miel (*A. mellifera*). 6° evaluación.

No. De muestra	Código	Fecha de determinación	Masa de la miel (g)	Volumen de la disolución (ml)	Factor de dilución	Abs. 1 a 550 nm	Abs. 2 a 550 nm	Concentración 1 (g/L)	Concentración 2 (g/L)	Concentración 1 total (g/L)	Concentración 2 total (g/L)	Concentración total promedio (g/L)		Porcentaje de ARD en miel (%(w/v))
9	POTI-DZ	17/11/2022	0.1002	100	998	0.472	0.476	0.61	0.62	610	615	613	± 3.13	61.3%
11	POTI-TX	17/11/2022	0.1001	100	999	0.387	0.394	0.52	0.53	517	525	521	± 5.49	52.1%
12	PE-DZ	17/11/2022	0.1000	100	1000	0.530	0.534	0.68	0.68	676	681	678	± 3.14	67.8%
13	PE-DZJACHA	17/11/2022	0.1000	100	1000	0.490	0.492	0.63	0.63	632	634	633	± 1.57	63.3%
14	PE-CHAJA	17/11/2022	0.1004	100	996	0.443	0.438	0.58	0.57	577	572	574	± 3.91	57.4%
15	PE-TAVESOL	17/11/2022	0.1006	100	994	0.534	0.537	0.68	0.68	677	680	678	± 2.34	67.8%
C1 (16)	COL-CR	17/11/2022	0.1008	100	992	0.441	0.445	0.58	0.58	573	577	575	± 3.12	57.5%
C2 (17)	COL-DP	17/11/2022	0.1015	100	985	0.634	0.630	0.79	0.79	780	776	778	± 3.09	77.8%

ANEXO J. ANOVAS de la concentración inicial y final del contenido ARD (g/L) en las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	119065.	19	6266.55	1292.07	0.0000
Intra grupos	97.0	20	4.85		
Total (Corr.)	119162.	39			

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
SIP-PT	2	684.5	X
COL-CR	2	692.0	X
PIHOL-DJ	2	696.5	X
PE-TAVESOL	2	707.0	X
COL-CAZIO	2	726.0	X
POTI-DZ	2	743.5	X
PE-DZ	2	745.0	XX
COL-SCE	2	747.5	XX
ACEK-DZ	2	748.5	XX
PIHOL-TD	2	753.0	XX
PE-DZJACHA	2	754.5	X
ACEK-JA	2	762.0	X
PE-CHAJA	2	773.0	X
POTI-TX	2	776.0	X
COL-CZ	2	799.0	X
COL-DP	2	820.0	X
TAH-JA	2	841.0	X
COL-CZMB	2	855.0	X
TAH-DZ	2	855.0	X
TAH-BM	2	866.0	X

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	192794.	19	10147.1	702.22	0.0000
Intra grupos	289.0	20	14.45		
Total (Corr.)	193083.	39			

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
POTI-TX	2	521.0	X
PE-CHAJA	2	574.5	X
COL-CR	2	575.0	X
SIP-PT	2	604.0	X
POTI-DZ	2	612.5	X
PE-DZJACHA	2	633.0	X
COL-CAZIO	2	640.5	X
COL-CZ	2	653.5	X
PIHOL-DJ	2	658.0	XX
COL-SCE	2	664.5	X
PE-TAVESOL	2	678.5	X
PE-DZ	2	678.5	X
ACEK-DZ	2	688.0	X
PIHOL-TD	2	703.5	X
ACEK-JA	2	704.0	X
COL-CZMB	2	715.5	X
TAH-DZ	2	753.5	X
TAH-JA	2	760.0	X
COL-DP	2	778.0	X
TAH-BM	2	789.0	X

Figura J-1. Análisis de varianza simple (ANOVAS) de la concentración inicial y final del contenido ARD (g/L) de las muestras de miel analizadas.
Descripción: Derecha (ANOVA y tabla de múltiples rangos de la concentración inicial), Izquierda (ANOVA y tabla de múltiples rangos de la concentración final).

ANEXO K. Datos ordenados para la realización de las correlaciones entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas durante un tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente.

Tabla K-1. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de todas las muestras de miel (*A. mellifera*) analizadas.

No. Muestra	Código	Incremento HMF en porcentaje (%)	Porcentaje (%) reducido ARD
1	SIP-PT	30	-12
2	ACEK-DZ	17	-8
3	ACEK-JA	22	-8
4	PIHOL-TD	10	-7
5	PIHOL-DJ	16	-5
6	TAH-BM	33	-9
7	TAH-DZ	47	-12
8	TAH-JA	31	-10
9	POTI-DZ	86	-18
12	PE-DZ	18	-9
13	PE-DZJACHA	92	-16
14	PE-CHAJA	207	-26
15	PE-TAVESOL	6	-4
C1 (16)	COL-CR	80	-17
C2 (17)	COL-DP	7	-5
A (18)	COL-CZ	142	-18
B (19)	COL-SCE	50	-11
C (20)	COL-CAZIO	44	-12
D (21)	COL-CZMB	49	-16
Coef. Correlación			-0.93

Tabla K-2. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel (*A. mellifera*) más estable durante esta prueba.

Muestra de miel PE-TAVESOL				
No. semanas	Contenido HMF (mg/100 g)	Concentración ARD (g/L)	Incremento HMF (%)	% ARD reducido
0	3.77	707	0	0
1	3.76	702	0	-1
3	3.83	694	2	-2
5	3.85	689	2	-3
7	3.90	681	3	-4
8	3.99	678	6	-4
Coef. Correlación				-0.86

Tabla K-3. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel (*A. mellifera*) menos estable durante esta prueba.

Muestra de miel PE-CHAJA				
No. semanas	Contenido HMF (mg/100 g)	Concentración ARD (g/L)	Incremento HMF (%)	% ARD reducido
0	0.45	773	0	0
1	0.73	754	62	-2
3	0.99	709	120	-2
5	1.03	671	129	-8
7	1.11	622	147	-20
8	1.38	574	207	-26
Coef. Correlación				-0.85

Tabla K-4. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel TAH-BM.

Muestra de miel TAH-BM				
No. semanas	Contenido HMF (mg/100 g)	Concentración ARD (g/L)	Incremento HMF (%)	% ARD reducido
0	3.55	866	0	0
2	4.02	850	13	-2
4	4.47	825	26	-5
6	4.57	795	29	-8
8	4.73	789	33	-9
Coef. Correlación				-0.95

Tabla K-5. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel TAH-DZ.

Muestra de miel TAH-DZ				
No. semanas	Contenido HMF (mg/100 g)	Concentración ARD (g/L)	Incremento HMF (%)	% ARD reducido
0	3.76	855	0	0
2	4.59	828	22	-3
4	4.84	804	29	-6
6	4.90	769	30	-10
8	5.51	753	47	-12
Coef. Correlación				-0.93

Tabla K-6. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel TAH-JA.

Muestra de miel TAH-JA				
No. semanas	Contenido HMF (mg/100 g)	Concentración ARD (g/L)	Incremento HMF (%)	% ARD reducido
0	3.74	841	0	0
2	4.43	833	18	-1
4	4.71	800	26	-5
6	4.77	782	28	-7
8	4.89	760	31	-10
Coef. Correlación				-0.86

Tabla K-7. Datos ordenados para la realización de la correlación entre el incremento HMF (%) y el porcentaje (%) de reducción ARD de la muestra de miel COL-DP.

Muestra de miel COL-DP				
No. semanas	Contenido HMF (mg/100 g)	Concentración ARD (g/L)	Incremento HMF (%)	% ARD reducido
0	6.67	820	0	0
1	6.72	818	1	0
3	6.79	804	2	-2
5	6.98	792	5	-3
7	7.06	780	6	-5
8	7.16	778	7	-5
Coef. Correlación				-0.98