

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**“CARACTERIZACIÓN DE LA MIEL DE ABEJAS Y  
DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS PARA LA  
ELABORACION DE TINTURA MADRE DE PROPOLEOS  
EN LA RESERVA NACIONAL DE TARIQUIA”.**

**Por:**

**CRISTO MAURICIO ECHALAR BALDIVIEZO**

**Proyecto de grado presentado a consideración de la “UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO”, como requisito para optar  
el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Química por la  
modalidad de proyecto de grado en investigación aplicada.**

**ABRIL 2014**

**TARIJA-BOLIVIA**

## DEDICATORIA

A Dios, a mi familia, a mi compañera que siempre me ayudó y alentó a seguir adelante  
“Claudia”

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
Advertencia.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Pensamiento.....	iv
Resumen.....	v

## INTRODUCCIÓN

Antecedentes.....	1
La Miel en América.....	3
Propóleos.....	4
Producción y mercado de productos apícolas.....	4
Reserva nacional de flora y fauna TARIQUÍA.....	8
Características Generales.-.....	9
Aspectos físico naturales.-.....	9
Descripción del Problema.....	10
Objetivos.....	11
Objetivo general.....	11
Objetivos específicos.....	11
Justificación.....	12

## CAPÍTULO 1

### MARCO TEÓRICO

1.1.- Generalidades.....	15
1.1.1.-Productos de la colmena.....	15
1.2.- Miel.....	15
1.2.1.-Tipos de miel.....	19

1.2.2.- Otros estándares para la miel de abejas. Parámetros importantes de la miel ...	21
1.2.3.- Análisis de Mieles .....	23
1.2.4. Análisis palinológicos .....	23
1.2.5.- Análisis ecología microbiana .....	23
1.2.6.- Parámetros de calidad .....	24
1.2.7. Parámetros físico-químicos de calidad.....	25
1.2.7.1. PH.....	25
1.2.7.2. Actividad de agua (aw).....	26
1.2.7.3. Conductividad eléctrica .....	29
1.2.7.4. Tipos de acidez .....	30
1.2.7.5. Sólidos insolubles y sólidos totales .....	32
1.2.7.6. Color .....	33
1.2.8.- Parámetros químicos de la miel .....	33
1.2.8.1. Humedad.....	33
1.2.8.2. Azúcares .....	36
1.2.8.3. Cristalización de la miel .....	40
1.2.8.4. Elementos minerales. Cenizas .....	41
1.2.8.5. Frescura de la miel.....	43
1.2.9. Análisis relacionados con la inocuidad .....	43
1.2.9.1. Residuos de antibióticos .....	43
1.2.10.- Normativas de la miel de abejas.....	44
1.2.10.1- Normativa según anónimo .....	44
1.2.10.2.- Normativa Boliviana .....	45
1.3. El Propóleos.....	46
1.3.1. Recolección y elaboración por parte de las abejas .....	46
1.3.1. La elaboración del Propóleos por parte de las abejas .....	47
1.3.3. Cosecha del propóleos .....	48
1.3.3.1. Colector de propóleos llamado Pirassununga.....	49
1.3.1.-Composición del propóleos .....	50
1.3.2. Análisis de calidad de propóleos y Parámetros de normas.....	53

1.3.4. Procesamiento de Propóleos .....	55
	<b>Página</b>
1.3.4.1. Preparación de la tintura madre (o solución alcohólica) .....	55
1.3.5. Técnicas de extracción sólido – líquido.....	56
1.3.5.1. Extracción Discontinua .....	56
1.3.5.2. Extracción Continua: .....	57
1.3.6. Clasificación de los extractos .....	57

## CAPÍTULO II

### PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Metodología del proyecto.....	59
2.2. Muestreo y análisis organoléptico .....	60
2.2.1. Descripción de muestras .....	66
2.2.2. Análisis de características físico-químicas .....	66
2.2.3. Análisis de Resultados.....	67
2.3. Metodología de análisis de Propóleos y elaboración de tintura madre .....	69
2.3.1. Recolección de muestras de propóleos en bruto:.....	69
2.3.2. Análisis preliminar.....	70
2.3.3. Acondicionamiento del propóleos bruto.....	74
2.3.4. Preparación de la muestra .....	76
2.3.5 Análisis del propóleos bruto .....	78
2.3.5.1. Determinación de Humedad .....	78
2.3.5.2. Extracción de ceras, resinas y determinación de impurezas mecánicas .....	84
2.3.6. Elaboración de la tintura madre de propóleos .....	96
2.3.6.1. Diseño factorial para la obtención de tintura madre de propóleos .....	97
2.3.7. Análisis de la tintura madre de Propóleos .....	107
2.3.7.1. Determinación de extracto Seco.....	108
2.3.7.2. Determinación del Índice de Oxidación.....	112
2.3.7.3. Determinación del espectrograma de absorción en el UV.....	115

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

	<b>Página</b>
3.1. Análisis de resultados de los ensayos físicoquímico de la Miel.....	126
3.2. Análisis de los resultados obtenidos de los análisis del Propóleo bruto y de la tintura madre de propóleos .....	135
3.2.1. Análisis preliminar .....	135
3.2.2. Análisis de resultados de los ensayos de propóleos bruto.....	135
3.2.2.1. Análisis de datos de la determinación del porcentaje de humedad.....	135
3.2.2.2. Análisis de los resultados de extracción de ceras, resinas e impurezas mecánicas .....	141
3.2.3. Análisis de resultados de los ensayos de la tintura madre de Propóleos .....	148
3.2.3.1. Extracto seco .....	148
3.2.3.2. Análisis ANOVA de los resultados de la extracción.....	158
3.2.4 Control de calidad del producto obtenido .....	161
3.2.4.1. Índice de Oxidación.....	161
3.2.4.2. Determinación del espectrograma de absorción en el UV .....	161
3.3. Discusión Miel de Abejas.....	163
3.4. Discusión Extracción de Tintura madre de Propóleos .....	164

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones.....	166
Recomendaciones.....	168

## BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía .....	169
--------------------	-----

## Índice de Cuadros y/o Tablas

	Página
Gráfico I-1 Producción mundial de miel.....	5
Tabla I-2 Importaciones de propóleos en miles de Euros en el año 2008 .....	6
Gráfica I-2 Mapa Político de la Reserva Nacional De Flora y Fauna de Tariquía (RNFFT).....	8
Cuadro I-1 Origen de los productos de colmena .....	15
Tabla 1-1 Composición porcentual de la miel de abeja .....	16
Tabla I-2 Valor nutritivo de la miel de abeja en 100 g de porción .....	17
Tabla I-3 Componentes más usuales de la miel .....	17
Tabla I-1 Di y trisacáridos de la miel, según (Zandamela, E.M.F. 2008).....	38
Cuadro I-2 Composición del propóleos muertos (Enrique L. Bedascarrasbure y Luis M. Maldonado 2006). .....	51
Cuadro I-3 Datos experimentales de composiciones de distintos propóleos de la república de Argentina según muertos (Enrique L. Bedascarrasbure y Luis M. Maldonado 2006).....	52
Cuadro I-4 Análisis de calidad para el propóleos bruto y extractos de propóleos cuadro resumen de la publicación de Enrique Bedascarrasbure y Luis M. Maldonado “Caracterización y normalización de propóleos argentinos”.....	54
Cuadro II-1 Muestra 1; Miel de flores-Salinas afuera 2 .....	61
Cuadro II-2 Muestra 2; Miel de flores-Salinas 1 .....	61
Cuadro II-3 Muestra 3; Miel de flores-Motobí .....	62
Cuadro II-4 Muestra 4; Miel de flores-Chiquiacá.....	62
Cuadro II-5 Muestra 5; Miel de flores-San José .....	63
Cuadro II-6 Muestra 6; Miel de Mielada-Chiquiacá.....	64
Cuadro II-7 Muestra 7; Miel de Mielada-Pampa Grande .....	64
Cuadro II-8 Muestra 8; Miel de Mielada-Salinas .....	65
Cuadro II-9 Muestra 9; Miel de Mielada-Motoví.....	65
Cuadro II-10 Muestra 10; Miel de Mielada-Motoví.....	66

Cuadro II-11 Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de Salinas.....	70
Cuadro II-12 Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de Chiquiacá.....	71
Cuadro II-13 Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de La Planchada.....	71
Cuadro II-14 Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de Motoví.....	72
Cuadro II-15 Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de San José.....	72
Cuadro II-16 Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de Volcán Blanco.....	73
Cuadro II-17 Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de Tariquía.....	73
Tabla II-2 Datos de los pesos de las distintas muestras de Propóleos recolectados en la reserva de Tariquía.....	75
Tabla II-3 Tabulación de datos de peso de muestras, e impurezas retiradas de cada una de ellas.....	75
Tabla II-4 Datos de la molienda fina y tamizado de las muestras.....	77
Tabla II-5 Datos de la molienda fina y tamizado de las muestras.....	77
Tabla II-6 Datos de la molienda fina y tamizado de las muestras.....	77
Tabla II-7 Datos de ensayos de granulometría de secado de Propóleos en Balanza de humedad EUROTHERM, muestras de Salinas (rechazo 0,25 y rechazo 0,5 mm) y Chiquiacá (rechazo 0,5mm).....	81
Tabla II-8 Recopilación de datos de ensayos de secado de Propóleos en Balanza de humedad EUROTHERM de las muestras de La Planchada, Motoví y San José.....	82
Tabla II-9 Recopilación de datos de ensayos de secado de Propóleos en Balanza de humedad EUROTHERM de las muestras de Volcán Blanco y Tariquía.....	83
Tabla II-10 Recopilación de datos de ensayos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de Salinas 0,5 - 0,25 mm.....	89
Tabla II-11 Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta tipo Soxhlet de la muestras de Chiquiacá 0,5 mm.....	90



Tabla III-1 Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra N° 1 de miel de abejas muestreada de la localidad de Salinas fuera.....	126
Tabla III-2 Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas muestreada de la localidad de Salinas.....	127
Tabla III-3 Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra N°2 de miel de abejas muestreada de la localidad de Chiquiacá.....	128
Tabla III-4 Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas de la localidad de Motoví.....	129
Tabla III-5 Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas muestreada de la localidad de San José.....	130
Tabla III-6 Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas muestreada de la localidad de Chiquiacá.....	131
Tabla III-7 Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas de la localidad de Pampa Grande.....	132
Tabla III-9 Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas muestreada de la localidad de Motoví.....	133
Tabla III-10 Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas muestreada de la localidad de Naranjo Agrio.....	134
Tabla III-11 Resumen de los resultados obtenidos del ensayo de.....	136
Humedad realizado en la balanza EUROTHERM.....	136
Tabla III-12 Resumen de ensayos para la extracción de ceras.....	141
Tabla III-13 Resumen de los resultados obtenidos de la segunda extracción por solvente del propóleos mediante Etanol, correspondiente a la extracción de resinas.....	143
Tabla III-14 Resumen de los resultados obtenidos de impurezas mecánicas como residuo de las extracciones de ceras y resinas.....	145
Tabla III-16 Resultados finales de las composiciones del análisis del propóleos bruto, correspondiente a las muestras de La Planchada y Motoví.....	146

Tabla II-12 Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de Chiquiacá 0,5 .....	91
Tabla II-13 Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de Motoví 0,5 mm. ....	92
Tabla II-14 Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de San José 0,5 mm. ....	93
Tabla II-15 Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de Volcán Blanco 0,5 mm. ....	94
Tabla II-16 Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de Tariquía 0,5 mm.....	95
Tabla II-20 Diseño factorial para la extracción alcohólica del propóleos. ....	102
Tabla II-21 Cálculo de Materias primas para la ejecución del diseño factorial propuesto.....	103
Tabla II-22 cantidad de extracto seco y rendimiento en la tintura madre de propóleos.....	110
Tabla II-23 Resultados obtenidos del ensayo de extracto seco y cálculo de rendimiento para las 27 muestras del diseño factorial y las dos muestras de referencia.....	111
Tabla II-24 Recopilación de los datos de Índice de oxidación realizado a las 27 combinaciones, más dos muestras de referencia, una la reserva de Tariquía y otra de laboratorios Loghman .....	114
Tabla II-25 Datos de barrido espectral de las muestras 1,2 y 3. ....	116
Tabla II-26 Datos de barrido espectral de las muestras 4,5 y 6. ....	117
Tabla II-27 Datos de barrido espectral de las muestras 7,8 y 9. ....	118
Tabla II-28 Datos de barrido espectral de las muestras 10,11y 12. ....	119
Tabla II-29 Datos de barrido espectral de las muestras 13,14y 15. ....	120
Tabla II-30 Datos de barrido espectral de las muestras 16,17 y 18. ....	121
Tabla II-31 Datos de barrido espectral de las muestras 19,20 y 21. ....	122
Tabla II-32 Datos de barrido espectral de las muestras 22,23 y 24. ....	123
Tabla II-33 Datos de barrido espectral de las muestras 25,26 y 27. ....	124
Tabla II-34 Datos de barrido espectral de las muestras 28 y 29. ....	125

Tabla III-17 Resultados finales de las composiciones del análisis del propóleo bruto, correspondiente a las muestras de San José, Volcán Blanco y Tariquía .....	147
Tabla III-18 Resumen de los datos obtenidos del ensayo de residuo seco, el mismo que se llevó cabo en el CEANID.....	149
Tabla III-19 Valores comparativos de extracto seco en función de la variación del grado alcohólico.....	150
Tabla III-20 Valores comparativos de rendimiento de la extracción en función de la variación del grado alcohólico.....	152
Tabla III-21 Valores comparativos de extracto seco en función de la variación del porcentaje de propóleos utilizado para la extracción.....	153
Tabla III-22 Valores comparativos de rendimiento de la extracción en función de la variación del porcentaje de propóleos utilizado.....	155
Tabla III-23 Valores comparativos de extracto seco extraído en función de la variación del porcentaje de resinas contenido en el propóleos bruto.....	156
Tabla III-24 Valores comparativos de rendimiento de la extracción en función de la variación del porcentaje de resinas contenido en el propóleos bruto.....	157
Tabla III- 25 Factores inter-sujetos .....	158
Tabla III- 26 Pruebas de los efectos inter-sujetos .....	159
Tabla III-28 Resumen de los picos máximos del barrido espectral, además los datos de la longitud de onda del pico y la dilución que se realizó.....	162

## Índice de figuras

	<b>Página</b>
Figura 1 Antiguas colmenas .....	1
Figura 2 Propóleos .....	4
Figura 1-1 El estuche adaptado, sobre cámara de cría.....	49
y alza melaria, con su abertura inicial. ....	49
Figura 1-2 Cortina de propóleos formada.....	50
Figura 1-3 Un estuche completo con propóleos .....	50
Figura 2 Diagrama de bloques para la caracterización fisicoquímica de la miel de abejas. ....	59
Figura 2-1 Muestras de miel de flores .....	60
Figura 2-3 Diagrama de bloques para obtención de tintura madre de propóleos. ....	69
Figura 2-4 Diagrama de bloques para el acondicionamiento del propóleos.....	74
Figura 2-5 Molienda Gruesa. ....	74
Figura 2-6 Procesador Eléctrico .....	76
Figura 2-7 Tamiz de acero inoxidable .....	76
Figura 2-8 Balanza de humedad Eurotherm .....	78
Figura 2-9 Muestra fundida en el ensayo de determinación de la humedad. ....	79
Figura 2-10 Muestra de propóleos secado a 65 °C.....	80
Figura 2-11 Extractor por solvente .....	84
Figura 2-12 Desescador de Cristal .....	89
Figura 2-13 Agitado de las muestras en Agitador eléctrico .....	101
Figura 2-14 Filtrado al vacío .....	104
Figura 2-16 Tinturas envasadas después del filtrado.....	104
Figura 2-17 Proceso de refrigeración de tintura de Propóleos para la extracción de ceras .....	105
Figura 2-18 Filtrado al vacío para la extracción de ceras .....	105
Figura 2-19 En la figura de la derecha, tinturas refrigeradas a 0 C, donde se distinguen claramente las ceras al fondo de los envases, a la derecha el rechazo del filtrado al vacío que son las ceras solidificadas.....	106

Figura 2-20 Algunas de las tinturas después del filtrado de ceras.....	106
Figura 2-21 Muestra de referencia del laboratorio.....	107
Figura 2-18 Material y uno de los ensayos en proceso, para la determinación del índice de oxidación.....	113
Figura 2-19 Muestras totalmente decoloradas después del ensayo de índice de oxidación.....	113
Figura 3.1 Gráfica de los distintos valores e humedad obtenidos de las 7 muestras de propóleos, más sus duplicados.....	137
Figura 3.2 Curva de secado Salinas (0,25mm).....	137
Figura 3.4 Curva de secado Chiquiacá (0,5mm).....	138
Figura 3.5 Curva de secado La Planchada (0,5mm).....	139
Figura 3.6 Curva de secado Motoví (0,5mm).....	139
Figura 3.7 Curva de secado San José (0,5mm).....	140
Figura 3.8 Curva de secado Volcán Blanco (0,5mm).....	140
Figura 3.9 Curva de secado Tariquíá (0,5mm).....	141
Figura 3.10 Gráfica de los distintos porcentajes de cera obtenidos de las 7 muestras de propóleos, más sus duplicados.....	142
Figura 3.11 Gráfica de los distintos porcentajes de resina obtenidos de las 7 muestras de propóleos, más sus duplicados.....	144
Figura 3.12 Gráfica de los distintos porcentajes de impurezas mecánicas obtenidos de las 7 muestras de propóleos, más sus duplicados.....	145
Figura 3.13 Gráfica de las composiciones porcentuales de las muestras de propóleos analizados.....	148
Figura 3-14 Gráfica de los valores comparativos de extracto, en función del grado alcohólico del solvente.....	151
Figura 3-15 Gráfica de los valores comparativos de rendimiento, en función del grado alcohólico del solvente.....	152
Figura 3-16 Gráfica de los valores comparativos de extracto seco, en función del porcentaje de propóleos utilizado para la extracción.....	154
Figura 3-17 Gráfica de los valores comparativos de rendimiento de la extracción, en función del porcentaje de propóleos utilizado.....	155
Figura 3-18 Gráfica de los valores comparativos de extracto seco, en función del porcentaje de resinas contenido en el propóleos bruto.....	156

Figura 3-19 Gráfica de los valores comparativos de rendimiento de la extracción, en función del porcentaje de resinas contenido en el propóleos bruto. .... 157

## **RESUMEN**

El proyecto que se desarrolló investigó las cualidades tanto físicas como químicas de dos productos de colmena La Miel de abejas y El Propóleo que son cosechados y procesados en una de las regiones más privilegiadas del departamento de Tarija, como es la RESERVA NACIONAL DE FLORA Y FAUNA DE TARIQUIA (RNFFT).

Los pobladores se dedican a esta actividad desde hace varias generaciones, por lo tanto la apicultura está enraizada en la zona, las características organolépticas de los productos son reconocidos en la región, por lo que el fin de la investigación es determinar las características fisicoquímicas de la miel de abejas, y además ahondar en la investigación del propóleo, determinando los parámetros para la extracción de sus principios activos, conocido como tintura madre de propóleo, para así por intermedio de la revelación de sus características fisicoquímicas, los productores puedan incursionar en otros y más grandes mercados.

Para la miel se recurre al CEANID, el centro de análisis de alimentos, referencia del departamento, el que se encarga de proveer los resultados de los análisis fisicoquímicos de las 10 muestras que se tomaron en la región en dos épocas del año, y en función a las normativas existentes y la literatura encontrada se hizo un análisis de uno por uno de los resultados de dichos análisis en los que se verifica contenidos de impurezas mecánicas fuera de norma.

La extracción Propóleo se lleva a cabo por maceración del mismo, en este proceso se aplicó un diseño factorial pensado para evaluar las principales variables que pueden incidir en la extracción, tanto en su rendimiento, como en la calidad del extracto.

Se concluyó que la Miel debe tener un proceso de extracción de centrifugado lo que mejoraría calidad y permitiría que el producto este dentro de norma en el parámetro de impurezas mecánicas, pero que además de este parámetro la miel de esta región tiene gran potencial por su características fisicoquímicas.

Con el propóleos se determina que las extracciones con soluciones hidroalcohólicas de 80°Gay Lussac son las más óptimas ya que en términos de rendimiento, son tan eficientes como las de 96°Gay Lussac, pero en cuanto a la calidad muestran notable superioridad; además, destacar que en cuanto a los parámetros de porcentaje de propóleos y porcentaje de resinas según lo esperado, las extracciones mejoraron de manera lineal, aumentando el porcentaje de propóleos, o de porcentaje de resinas, lo que deja claro que la variación en porcentaje de propóleos, debe ser calculada en función de la concentración de tintura que se desea obtener. En los ensayos realizados, no se notó la saturación de la solución solvente hasta un 50% p/v.



# **INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

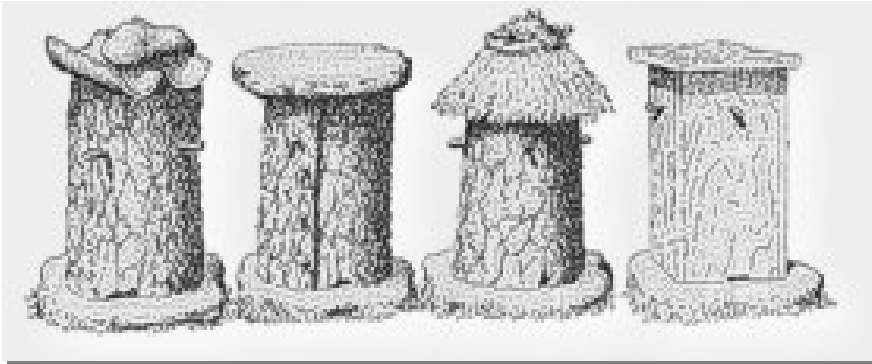
### 1. Antecedentes.-

La historia de la miel descrita a continuación fue tomada del libro digital apiterapia para todos del Dr. Moisés Asís (2006) donde relata que desde la antigüedad, el hombre ha recolectado la miel de las abejas, como atestiguan las pinturas rupestres de la cueva de la araña en Bicorp - Valencia. En la edad del bronce, hay evidencia que el hombre producía colmenas de forma artificial utilizando troncos vaciados de árboles o arcilla y paja; siendo la abeja el único insecto domesticado (Somero. 2006).

La Figura I-1 muestra antiguas colmenas realizadas con troncos de árboles, corcho, madera y otros tipos de materiales para el techo.

Un par de palos en cruz, sirven para sostener los panales de cera realizados por las abejas.

**Figura 1** Antiguas colmenas



Hay constancia, en jeroglíficos, que los egipcios tenían técnicas muy avanzadas, e incluso hacían trashumancia para aprovechar las floraciones a lo largo del río Nilo. La miel y la cera de las abejas se empleaban para múltiples usos, como: medicina, conservante, cosmético, edulcorante y ofrenda religiosa.

Los productos apícolas, han estado ligados a la religión. Zeus, el Dios supremo del Olimpo, fue alimentado en su juventud con miel. Uno de los libros del Corán, está

dedicado a la abeja, y Mahoma consideraba su miel como un remedio para todas las enfermedades.

Un alimento tan poderoso, no podía pasar desapercibido para la medicina. El médico griego Hipócrates, padre de la medicina, la recetaba para tener mayor longevidad y era consumida por los atletas griegos. La miel es conservante y bactericida, e incluso se puede considerar como antiséptica por su ácido fórmico e inhibina. Sus vitaminas, minerales y oligoelementos, la convierten en un poderoso cicatrizante que Hipócrates recomendaba para llagas y heridas, así como de las úlceras profundas infectadas.

La apreciación de los romanos por la miel, era tal que queda constancia de que además, la utilizaban para endulzar el vino de modo habitual. La primera calzada romana, se denominó Vía Apia, por el número de colmenas que había en sus veredas; no siendo estas suficientes, se recurría a las melazas, y se exigía miel, como parte de sus tributos, a los pueblos vencidos.

En la antigüedad, según Plinio el Viejo, se mezclaba miel al 50% con aceite de hígado de bacalao que tiene muchos nutrientes.

La introducción de la colmena movilista por el padre Layens, facilitó la producción de miel al poder mover las colmenas sin destruirlas como ocurría con anterioridad.

En siglos posteriores, hasta la aparición de los azúcares refinados, fue un elemento y edulcorante fundamental de la dieta en Europa. En Asturias, toda casona, tenía unas cuantas colmenas colgando de las fachadas para proporcionar alimento a sus moradores.

El precio de la miel frente a los azúcares refinados hizo que desapareciese de la dieta de muchos hogares en el siglo XX. Los azúcares refinados, a diferencia de la miel, no tienen más propiedad que la de aportar calorías con azúcares dobles más fácilmente convertibles en tejido adiposo y poco asimilables por el organismo, sin ningún aporte proteínico.

En la actualidad, las abejas y panales de cera de las colmenas pueden volver a producir instantáneamente tras una cosecha si tienen el néctar suficiente en los

campos. Se aprovechan las distintas floraciones, moviendo las colmenas para aprovechar al máximo todos los recursos.

Hoy en día, es un producto perfectamente asequible y recomendable para personas de todas las edades y aporta más beneficios dietéticos y de salud a su dieta que otros alimentos más caros que se consumen habitualmente.

Puede dársele muchos usos gastronómicos y medicinales. Existen infinidad de recetas y remedios. Lo único que no puede hacerse, es mezclarla con agua. Fermenta y se convierte en hidromiel. O calentarla a más de 45° pues pierde sus propiedades al destruirse sus vitaminas.

### **La Miel en América**

En América no existían las distintas especies del género apis, y las culturas establecidas en la zona utilizaron las abejas sin aguijón, o sea las llamadas meliponas.

Los mayas utilizaron la miel como recurso en la fabricación del balche, bebida que incluía además de la miel, corteza del bacheé y agua y que utilizaban en los rituales religiosos.

Ha sido utilizada también como moneda y objeto de un intenso comercio que realizaban desde Tabasco, por mar con Honduras y Nicaragua, así como con el Imperio Mexica, a cambio de miel y cera, los mayas probablemente recibían semillas de cacao y piedras preciosas.

Con la colonia, la apicultura fue considerada como monopolio real y exclusivo de España con su abeja europea o apis melífera. No obstante debido a las actividades religiosas surgió una fuerte demanda de la cera de abeja, utilizada para fabricar velas, que eran absolutamente indispensables para officiar la misa.

Entraba también en la fabricación del hidromiel y de numerosos licores como el vino dulce o mellita, el vino de mirto y el vino rosado hechos a base de vino de Chipre y aromatizado con mirto y rosas.

## **Propóleos**

El propóleos es producido por las abejas (*Apis mellifera*) por adición de cera y secreciones salivares al material resinoso, gomoso o balsámico que recolectan de diversas especies de plantas. En la colmena lo utilizan con diversos fines, como: cerrar grietas, reducir las vías de acceso, recubrir y aislar restos de animales que se hayan introducido en la colmena, consolidar componentes estructurales, barnizar el interior de las celdillas con fines desinfectantes y evitar vibraciones.

**Figura 2** Propóleos



A partir de la década del 60 se efectúan las primeras investigaciones científicas que develan la compleja estructura de los propóleos y ponen de manifiesto numerosas aplicaciones farmacológicas. Científicos de diferentes disciplinas profundizaron en su estudio, por lo que hoy se tiene respuesta a muchos interrogantes acerca de los mecanismos de acción que explican sus propiedades cicatrizantes, estimulantes del sistema inmunológico, antimicrobianas y anti cancerígenas. Los grupos químicos más importantes que intervienen en su composición son los siguientes:

Flavonoides, tales como quercetina, galangina, pinocembrina y crisina; además de ser los componentes principales de los propóleos, son responsables de sus propiedades. Enzimas como la catalasa, derivados del ácido y del alcohol cinámico, derivados del benzaldehído, terpenos (Rebollo y asociados, 2011)

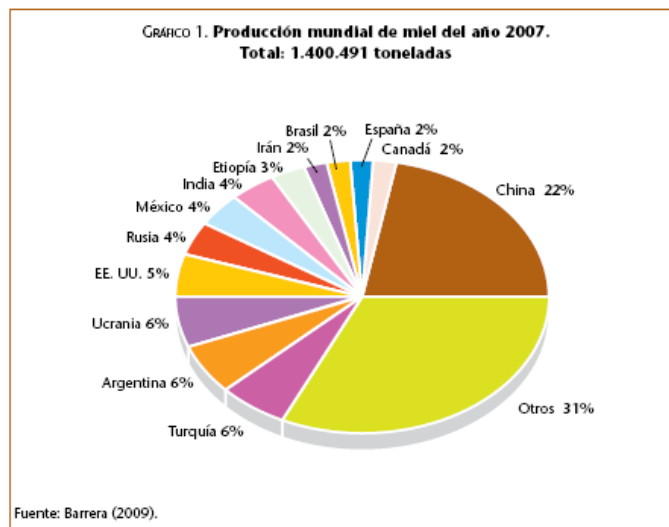
## **Producción y mercado de productos apícolas**

El mercado de la Unión Europea para productos apícolas es el más importante del mundo ya que los consumidores de los 27 Estados Miembros son grandes demandantes de productos naturales, orgánicos y medicinales, en especial los

consumidores alemanes, franceses y del Reino Unido. En términos absolutos es deficitaria en miel y tiene que importar casi el 50% de la que se consume. Esto se cumple tanto para la miel como para los propóleos y otros productos apícolas.

Según Barrera (2009), la producción de miel en el mundo creció 15% en el período 2000-2006, llegando a 1446000 toneladas. En 2007, último año en que existen estimaciones, habría bajado un poco más de 3%, a 1,4 millones de t. El principal país productor fue China, que con algo más de 303000 t fue responsable de casi el 22% de la producción mundial. Argentina se ubicó en segundo lugar, con una producción de 81000 t. Se estima, sin embargo, que esta producción habría bajado considerablemente en 2008. Una producción algo menor mostró Turquía y Ucrania (alrededor de 80000 t cada uno), Estados Unidos (70000), y México y Rusia (56000 t). La producción de Chile se estimó en 9100 t, equivalentes al 0,6% de la producción mundial. La demanda mundial por miel ha aumentado, ya que se considera un alimento saludable, no perecible y con propiedades altamente beneficiosas para la salud.

**Gráfico I-1** Producción mundial de miel



En el año 2008 las importaciones de propóleos naturales de los 27 países de la UE, ascendieron a 19 177.7 miles de euros, y el principal país exportador fue la República

Popular de China, que representó más del 26% del total, seguida por Polonia (11), Francia (9), los Países Bajos (8,5), Alemania (8) y Estados Unidos (8). Argentina es el país de América Latina que exportó por mayor valor (más de € 500000, equivalentes al 2,6%). La tabla i-1 muestra las importaciones de propóleos en miles de Euros (Rodrigo Navarro, Marcela Aguilera y Félix Bórquez 2009)

**Tabla I-2** Importaciones de propóleos en miles de Euros en el año 2008

Países	Importaciones	
	(€ x 1.000)	%
Total INTRA-EUR27	11.753,91	61,29
Total EXTRA-EUR27	7.423,79	38,71
Total general	19.177,7	100,00
China	5.033,83	26,25
Polonia	2.137,32	11,14
Francia	1.741,42	9,08
Países Bajos	1.625,6	8,48
Alemania	1.526,54	7,96
Estados Unidos	1.501,03	7,83
España	1.054,51	5,50
Hungría	904,14	4,71
República Checa	736,95	3,84
Argentina	506,15	2,64
Otros países	2.225,26	11,60

\* Partida 0410000000 Productos comestibles de origen animal no expresados ni comprendidos en otra parte. Fuente: PROARGEX (2009).

Dentro de los propóleos elaborados se encuentran las gomas o resinas. Las importaciones de estos productos, en el año 2008, ascendieron a € 70955,65 x 1000 y el principal país exportador fue Alemania, de gran importancia en el sector apícola, con un 46% del total. Brasil exportó € 3.696,67 x 1000, y fue el país latinoamericano de mayores ventas al bloque europeo.

Los extractos de propóleos se incorporan a la producción de medicamentos y cosméticos de gran variedad. Las importaciones de productos, incluidos los extractos de propóleos, ascendieron a € 361.655 x 1000; Alemania es el principal país abastecedor, con casi un 15% del total. Brasil fue el país latinoamericano de mayores ventas, representando el 9,5%. (Rodrigo Navarro, Marcela Aguilera y Félix Bórquez 2009)

APIBO, es la Asociación empresarial de productores y exportadores de miel de abejas más grande en Nicaragua. En total, la asociación produce unos 350 barriles anuales de miel orgánica aunque no toda certificada. Para exportación, se destinan unas 72 toneladas de miel orgánica certificada (240 barriles de 300 kg.). Al mercado nacional se destinan unas 14.4 toneladas de miel orgánica certificada (unos 48 barriles). La meta de la organización es sacar al mercado nacional unas 36 toneladas que corresponden a unos 120 barriles.(Cadena agroindustrial de la miel de abeja, 2004)

Se estima que en Chile se producen entre 5 y 7 000 toneladas anuales, llegando el año 2006 a producir más de 8900 toneladas de las cuales 7550 fueron destinadas a la exportación y 1350 son destinadas a cubrir la demanda interna. Adicionalmente a la producción de miel el sector apícola aporta servicios de polinización y otros productos como el polen, propóleos, producción de reinas y apitoxina, entre otros. (Rodrigo Navarro, Marcela Aguilera y Félix Bórquez 2009).

Las estadísticas de las exportaciones bolivianas de miel de abeja nativa que se registraron en el año 2008, tienen como único destino a Brasil. Alcanzaron aproximadamente USD32 000 en valor y 2000 kg en volumen ese año.

Según datos del Instituto Nacional de Estadística, en el año 2009 **las exportaciones bolivianas** de miel natural de abejas nativas tuvieron a Brasil como único destino nuevamente, registrando en valor de U.S\$48 000 y en volumen 2061 kg.

Registros de exportaciones del 2007 de miel de abeja nativa, registraron a Brasil como único destino con aproximadamente USD12 mil en valor y 599 kilogramos en volumen.

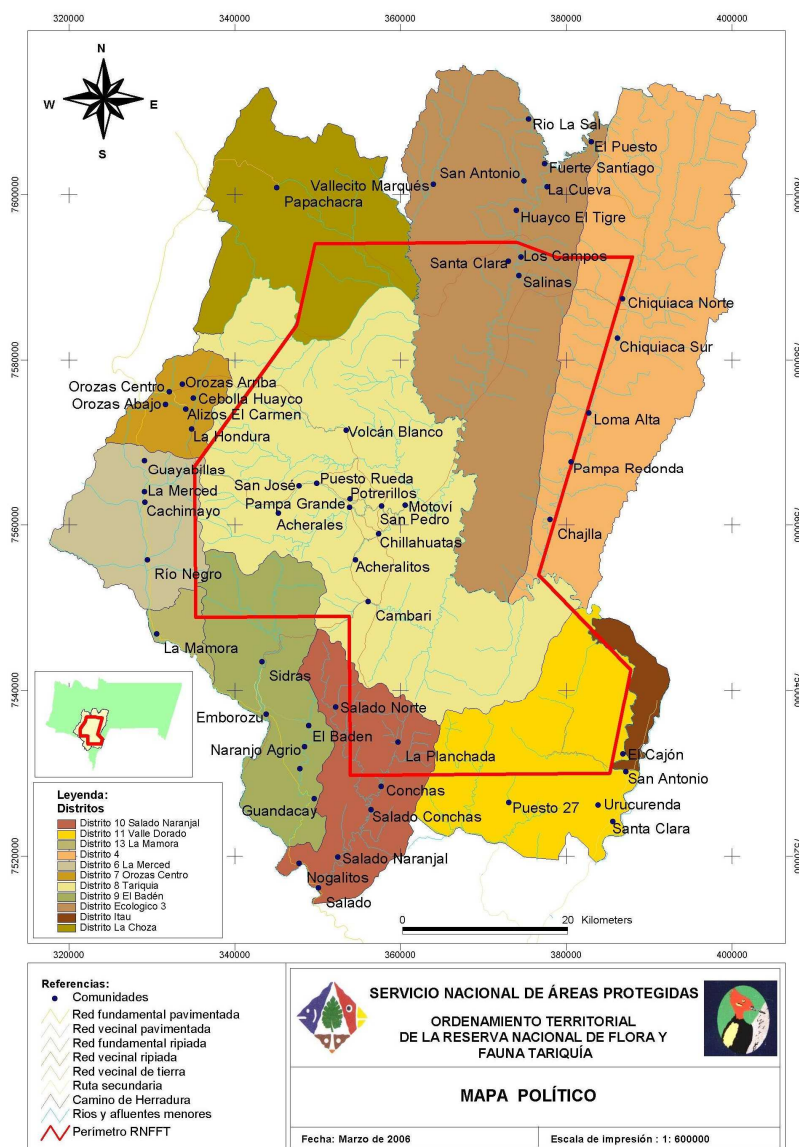
Sin embargo a manera de referencia, las exportaciones bolivianas de miel natural de abejas tuvieron como destinos a Alemania en el 2003, a Chile en el 2005 y Estados Unidos de América del 2004 al 2007. Cabe señalar que los valores exportados eran pequeños y fueron solo durante un año y no se volvieron a repetir. (Instituto boliviano de Comercio Exterior, IBCE, 2010).



## Reserva nacional de flora y fauna TARIQUÍA

El Servicio Nacional de Áreas Protegidas SERNAP (2004), proporciona la siguiente información detallada y completa del área de la reserva de Tariquía, que tiene una superficie de 246870 hectáreas, cuyas serranías superan los 3000 m.s.n.m. Es la única área protegida que incluye muestras bien conservadas de los bosques de yungas tucumano-boliviano, incluyendo bosques de ceja y praderas panorámicas de neblina.

**Gráfica I-2** Mapa Político de la Reserva Nacional De Flora y Fauna de Tariquía (RNFFT).



### **Características Generales.-**

Declarada área protegida mediante Decreto Supremo N° 22277 del 01 de agosto de 1989 y elevada al rango de Ley N° 1328 del 23 de abril 1992.1/ago/1989. La reserva nacional de flora y fauna de Tariquía se encuentra situada entre los 64°06'12" – 64°36'00" de longitud oeste y 21°45'00" – 22°20'28" de latitud sur. Ubicada al sureste del departamento de Tarija y sur de Bolivia, abarca cuatro provincias del mismo: Arce, O'Connor, Gran Chaco y Avilés; bajo la jurisdicción de los municipios de Padcaya, Entre Ríos, Caraparí y Uriondo. Se encuentra próxima a la frontera con la República de la Argentina y forma parte del corredor ecológico binacional Tariquía – Baritú. (SERNAP,2004)

### **Aspectos físico naturales.-**

Las condiciones climáticas son muy variadas, de templado a cálido, la precipitación y la temperatura difieren según el gradiente altitudinal y relieve propios del lugar. En las montañas del oeste predomina un clima frío templado con temperaturas medias anuales entre 10 y 15 °C y precipitaciones de 800 mm. El rango altitudinal oscila entre los 500 y 3500 m.s.n.m. La reserva nacional de flora y fauna de Tariquía pertenece a las provincias fisiográficas de la Cordillera Oriental Sur. Pertenece a la cuenca del Plata, subcuenca norte de la cuenca superior del río Bermejo. Los mayores componentes de esta cuenca son los ríos Orozas, Chiquiacá y Grande de Tarija.

El Área comprende mayormente a la subregión biogeográfica de bosque húmedo montañoso de Yungas, representada en su mayoría por el bosque tucumano-boliviano, pero también está presente en menor proporción el bosque seco marginal chaqueño (SERNAP,2004).

Se ha determinado la presencia de 609 especies de plantas, 135 familias y 382 géneros. Las familias mejor representadas son las leguminosas, mirtáceas, lauráceas y sapindáceas; entre las arbustivas se destacan las compuestas, solanáceas y melastomatáceas; dentro de las especies no arbóreas están las bromeliáceas, orchidáceas y helechos. La reserva nacional de flora y fauna de Tariquía es la única

área protegida de Bolivia que posee muestras bien conservadas del bosque tucumano – boliviano. El bosque montañoso está por encima de los 1500 msnm e incluye bosques oligoespecíficos de pino de monte (*Podocarpus Parlatoresi* y *Aliso Alnus acuminata*). Entre las especies endémicas, de la formación tucumano - boliviana encontradas en la RNFFT podemos indicar: *Tabebuia lapacho* (Bignoniaceae), *Viburnum seemenii* (Caprifoliaceae), *Terminalia triflora* (Combretaceae), y *Aegiphila saltensis* (Verbenaceae) (SERNAP, 2004).

Cabe aclarar que una especie endémica es aquella que se distribuye en un ámbito geográfico reducido y que no se encuentra de forma natural en otras partes del mundo.

### **Descripción del Problema**

En la RNFFT, existe una asociación de apicultores bien organizada denominada Asociación de Apicultores de la Reserva Nacional de Flora y Fauna de Tariquía (AARNFFT) con gran potencial de productividad y que ofrece al mercado miel de abejas con excelentes características organolépticas pero sin información de sus características particulares, es decir, no tienen datos de ningún análisis fisicoquímico que pueda venir a respaldar o refutar la calidad de esta miel.

Esta asociación, debido a las falencias mencionadas, tiene problemas con la comercialización de la miel puesto que al no tener la información que poseen las mieles de abeja importadas, no puede competir con las mismas y los productores no cuentan con la suficiente orientación para mejorar y diversificar sus productos ofreciéndolos a mercados más grandes en busca del posicionamiento de la miel de la región.

Por otro lado, otra de las problemáticas que se pueden detectar es la referida a la elaboración de tintura madre de propóleos puesto que esta es la base para toda la cadena de productos elaborados a base de propóleos, y el problema descansa en que el proceso más importante que es la extracción no tiene ningún tipo de estudio, es decir, se realiza la extracción de manera rutinaria bajo ciertos procedimientos

(Maceración) y determinadas cantidades (aproximadamente 250gr por litro de alcohol 96° Gay Lussac), sin tener claro o estar seguros que esa es la mejor forma de realizar la extracción y teniendo nulos conocimientos y aplicación científica de técnicas para el mejoramiento de este proceso y la determinación de parámetros para obtener el mejor producto final posible y a la vez mejores subproductos a partir de la tintura madre de propóleos.

## **Objetivos**

### **Objetivo general.-**

-Caracterizar la miel de abejas que producen los apicultores en la Reserva Nacional de Flora y Fauna de Tariquía y determinar los parámetros para la elaboración de tintura madre del propóleos que producen las abejas que se crían en la región.

### **Objetivos específicos.-**

-Tomar muestras de miel de abejas cosechada por los productores de la asociación de apicultores (AARNFFT) que producen y recolectan miel en diferentes regiones de la reserva nacional de flora y fauna de Tariquía y realizar el análisis de las propiedades organolépticas y físico-químicas de la miel de abejas procedente de cada región.

- Caracterizar la miel de abejas de la reserva nacional de flora y fauna de Tariquía en función a los resultados obtenidos de las muestras analizadas.

- Tomar muestras de propóleos de 7 regiones de la reserva nacional de flora y fauna de Tariquía y realizar el análisis de las características organolépticas y físico-químicas del propóleos bruto.

-Realizar el diseño factorial que permita determinar el número de experimentos y las interacciones entre los parámetros fijados que permitan mayores rendimientos en la etapa de extracción

- Determinar el rendimiento obtenido en la extracción.

- Realizar el control de calidad de la tintura madre de propóleos obtenida, contrastando los resultados con los de 2 muestras testigo que se encuentran a la venta en el mercado.

### **Justificación**

Como describe el objetivo del proyecto es la caracterización físico-química de la miel de abejas de la región y la determinación de parámetros para la elaboración de tintura madre de propóleos, logrando con estos estudios potenciar la actividad apícola de la región de Tariquía, logrando sentar bases científico técnicas sobre las que se puede verificar la calidad de la miel y de la tintura madre de propóleos a través de la determinación de la extracción más óptima de la tintura madre de propóleos con sus principios activos.

Además por medio de la potencialización de esta actividad se obtienen múltiples beneficios para esta región, ya que se inyectará fuerza a una de las principales fuentes de ingresos de los habitantes de la reserva, y lo más importante a través de una actividad que lejos de ir en contra del equilibrio de la región irá a contribuir a la polinización de las diferentes especies de flora y cultivos no extensivos de la región logrando así un beneficio indirecto muy importante, como lo es el aumento de la productividad en estas actividades. Con lo que viene cazado otro beneficio socio económico dando mayor estabilidad a la población de este lugar para evitar en alguna manera la migración por falta de actividades rentables dentro de la reserva. Puesto que se constituye una importante actividad económica con un atractivo potencial de exportación, según se describe en el siguiente párrafo:

“Los principales países productores de miel en el ámbito mundial son en orden descendente China, Estados Unidos y Argentina, los cuales en el año 2000 produjeron 253, 101 y 90 miles de toneladas respectivamente. A nivel mundial son China y Argentina los principales exportadores. Es importante mencionar que México ocupa el cuarto lugar a escala mundial en producción de miel con 56.8 miles de toneladas el mismo año y el tercer lugar en exportaciones. La producción de los Estados Unidos se destina principalmente al mercado interno, ya que la proporción de producto

exportado respecto a la producción es menor del 4%. Sus importaciones en el año 2001 fueron de 72,500 toneladas métricas, de las cuales el 31% provenía de Argentina, el 27% de China, alrededor del 16% de Canadá, 9% de Vietnam, 6% de México y el resto de varios países alrededor del mundo. De acuerdo a datos de la FAO correspondientes al 2000, los principales compradores a nivel mundial de miel son Alemania con 95 miles TM, EEUU con 89.9 miles TM, Japón con 41.1 miles TM, Reino Unido con 22.7 miles TM y Francia con 15.7 miles TM. A ellos les siguen otros países de la Unión Europea con cantidades un poco inferiores a las francesas. Lo que destaca el organismo internacional es que Dinamarca y Arabia Saudita han ido incrementando su demanda al mercado internacional al punto de sobrepasar a países tradicionales. China, con su crecimiento económico en los últimos años, podría entrar a la lista muy pronto si su producción local no llega adaptarse a la demanda interna. (Barrera, 2008).

Otro importante beneficio indirecto se puede traducir en la mayor presencia y reconocimiento de los productos de colmena, dentro del mercado local lo que incluiría en cierta proporción estos productos de excelentes características terapéutico nutricionales en la dieta de la población Tarijeña.

Como respaldo de los beneficios indicados se detallan las declaraciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que ha afirmado recientemente que el hecho de tomar una gran cantidad de azúcares simples, como el azúcar de mesa, además de aumentar el riesgo de obesidad, amenaza la calidad nutricional de la alimentación humana ya que éstos aportan mucha energía y muy pocos nutrientes. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda, por tanto, restringir su uso a no más del 10% de la ingesta calórica. (Julio Basulto 2008)

La miel está compuesta de azúcares tales como glucosa y fructosa, y de minerales, como magnesio, potasio, calcio, cloro, azufre, hierro y fosfato. Contiene vitaminas B1, B2, C, B5 y B3. Todas las mieles son distintas según la calidad del néctar y el polen por lo que es importante realizar la caracterización de la miel de abejas que se produce en la reserva nacional de flora y fauna de Tariquía.

Además como otro importante aporte, el sector apícola nos brinda otros productos de colmena como la cera de abejas, el polen, la jalea Real y el veneno.

Esta simple descripción nos muestra las excelentes posibilidades que tiene la apicultura dentro del sector agropecuario, ya que como actividad económica nos permite la diversificación productiva y principalmente comercial, ya que como se describe en los párrafos anteriores, este mercado tiende a crecer rápidamente con las nuevas tendencias en materia de nutrición.

**CAPÍTULO I**  
**MARCO TEÓRICO**



## 1. MARCO TEÓRICO

**1.1.- Generalidades.-** A continuación se detalla toda la teoría de importancia para la comprensión del presente proyecto, teniendo en cuenta que en primer lugar se detalla lo referido a la miel de abejas y después se continuará con los detalles del propóleo.

### 1.1.1.-Productos de la colmena.-

Se entiende por productos de colmena a todos los productos que se extraen de ella, ya sean estos de origen endógeno, que producen las abejas, o exógeno que solo lo recolectan; éstos son detallados en la siguiente tabla.

**Cuadro I-1 Origen de los productos de colmena**

Sustancia	Origen principal
Abeja	Endógeno (glándulas Hipo faríngeas)
Jalea real	Endógeno (glándulas Hipo faríngeas)
Polen	Exógeno
Miel	Exógeno
Cera	Exógeno
Propóleos	Glándulas céreas, exógeno pópulos

**Fuente:** ABC y XYZ de la apicultura, A.I. Root (2008).

### 1.2.- Miel

Es la sustancia dulce natural producida por las abejas (*Apis Melífera*) a partir del néctar de las flores o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de plantas, que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, almacenan y dejan en el panal para que madure (NB 38023 Miel-Requisitos 2006).

Es de conocimiento general que la miel es la fuente de energía que necesitan las abejas en todas las etapas de su vida. Este producto lo elaboran a partir del néctar que

ellas liban en las flores. El néctar es un líquido que contiene muchas cosas, entre otros, mucha sacarosa (el azúcar de caña), y agua (entre 40 y 80%).

Desde épocas remotas los médicos y filósofos griegos hacían referencia al valor del polen y la miel de abeja, como el alimento o ambrosía de los Dioses, afirmando que en ella se encontraba el secreto de una larga juventud.

La tabla 1-1 muestra la composición porcentual de la miel de abeja

**Tabla 1-1 Composición porcentual de la miel de abeja**

<b>Constituyentes</b>	<b>Valor medio (%)</b>	<b>Rango (%)</b>
<b>Principales constituyentes (99 % de la miel)</b>		
Agua	17.0	13.4 - 26.6
Fructosa	39.3	21.7 - 53.9
Glucosa	32.2	20.4 - 44.4
Sacarosa	2.3	0 - 5.6
Otros azúcares	8.8	-
<b>Constituyentes secundarios.</b>		
Total ácidos (glucónico)	0.57	0.17 - 1.17
Minerales	0.17	0.02 - 1.03
Aminoácidos y proteínas	0.04	0.00 - 0.13
Enzimas	Traza	-
Aromas	Traza	-

**Fuente:** ABC y XYZ de la apicultura, A.I. Root (2008).

**Tabla I-2 Valor nutritivo de la miel de abeja en 100 g de porción**

Sustancias	Cantidad
Humedad	17.2 g
Hidratos de carbono	78.0 g
Valor energético	302 Kcal
Calcio	20.0 mg
Hierro	0.8 mg
Sodio	5.0 mg
Acido ascórbico	4.0 mg
Riboflavina	0.07 mg
Proteína	2.2 g
Grasa	0.0
Porción comestible	100%
Fósforo	16.0 mg
Magnesio	3.0
Potasio	51 mg
Tiamina	0.01 mg

**Fuente:** Rebollo y asociados (2011).

Según Rebollo y asociados (2011) los componentes más usuales de la miel se muestran en la tabla I-3:

**Tabla I-3 Componentes más usuales de la miel**

Componente	Rango	Contenido típico
Agua	14 - 22 %	17%
Fructosa	28 - 44 %	38%
Glucosa	22 - 40 %	31%
Sacarosa	0,2 - 7 %	1%
Maltosa	2 - 16 %	7,5%
Otros azúcares	0,1 - 8 %	5%
Proteínas y aminoácidos	0,2 - 2 %	
Vitaminas, enzimas, hormonas Ácidos orgánicos y otros	0,5 - 1 %	
Minerales	0,5 - 1,5 %	
Cenizas	0,2 - 1,0 %	

**Fuente:** Rebollo y asociados (2011)

La humedad es un componente fundamental para la conservación de la miel. Mientras el porcentaje de humedad permanezca por debajo de 18% nada podrá crecer en ella. Por encima de ese valor pueden aparecer procesos fermentativos.

La miel no se echa a perder. Gracias a su alta concentración de azúcar, mata a las bacterias por lisis osmótica. Las levaduras aerotransportadas no pueden prosperar en la miel debido a la baja humedad que contiene. El efecto preservante de la miel se debe a su baja concentración de agua y es idéntico al que permite la prolongada conservación de los dulces y de las frutas en almíbar donde el alto contenido en azúcar disminuye el contenido de agua.

La miel, como puede verse en las anteriores tablas, contiene todas las vitaminas que los bromatólogos o expertos en nutrición consideran necesarias para la salud: las del grupo B, tiamina, niacina, riboflavina, ácido pantoténico, piridoxina y biotina, además de ácido ascórbico o vitamina C. Contiene todos los minerales que son esenciales para la salud: hierro, fósforo, aluminio y magnesio. (Rebollo y asociados, 2011)

Además, la miel sin procesar y sin filtrar contiene pequeños trozos de polen, que son proteína pura. (Rebollo y asociados, 2011)

El análisis del polen ha demostrado que contiene cerca del 35% de proteína, principalmente de aminoácidos libres; además, contiene todas las vitaminas solubles en agua, como son el rutín, biotín y el ácido nicotínico y es rico en la provisión de minerales y de oligo elementos. Es decir, un súper alimento. (Rebollo y asociados, 2011)

Según E. Dussart (2007) la transformación del néctar en miel implica 2 etapas principales:

**- Primera Etapa-Transformación de la sacarosa en fructosa y glucosa**, azúcares más simples que son utilizables directamente por el organismo, sin previa digestión, mediante la enzima invertasa, presente en el buche de las abejas.

**-Segunda Etapa-Evaporación del agua para concentrar el néctar**, hasta que no contenga más del 18% de agua por acción de ventilación, que consiguen con el aleteo de las mismas abejas.

### **1.2.1.-Tipos de miel**

La miel en función a algunas de sus características se clasifica en distintos tipos que según la Norma Boliviana 38023 son:

#### ➤ **Según su origen**

##### **Miel de flores**

La Miel de flores o néctar es la miel que procede principalmente de los néctares de las flores.

Se distinguen dos tipos:

- Mieles uniflorales o monoflorales. Cuando el producto procede principalmente de néctares de flores de una misma familia, género y/o especie y posee características sensoriales, fisicoquímicas y microscópicas propias.
- Mieles multiflorales o poliflorales o milflorales.

##### **Miel de mielada**

La miel de mielada es la miel que procede principalmente de secreciones de las partes vivas de las plantas o de excreciones que los insectos succionadores de plantas dejan sobre partes vivas de plantas. Su color varía de pardo muy claro, o verdoso, a pardo oscuro.

#### ➤ **Según el procedimiento de obtención**

##### **Miel centrifugada**

Miel obtenida mediante la centrifugación de los panales desoperculados, sin larvas.

**Miel prensada**

Miel obtenida mediante la compresión de los panales, sin larvas, con o sin aplicación de calor moderado.

**Miel escurrida**

Miel obtenida mediante el drenaje de los panales desoperculados, sin larvas.

**➤ Según su presentación****Miel líquida**

Es el producto libre de cristales visibles que no ha sido sometido a proceso alguno de calentamiento.

**Miel licuada**

Es el producto resultante de someter la miel cristalizada a la acción de temperaturas adecuadas, hasta que quede libre de cristales visibles, pero sin provocar su caramelización.

**Miel parcialmente cristalizada**

Es el producto constituido por miel en proceso de cristalización que presenta cristales en suspensión.

**Miel cristalizada o granulada**

Es el producto que ha experimentado un proceso natural de solidificación como consecuencia de la cristalización de la glucosa.

**Miel cremosa (batida)**

Es la miel que tiene una estructura cristalina fina y que puede haber sido sometida a un proceso físico que le confiera esa estructura y que la hace fácil de untar.

**Miel en panal**

Miel almacenada y operculada por las abejas en celdas de panales recién contruidos, sin larvas, y comercializadas en panales enteros cerrados o secciones de tales panales.

**Miel con trozos de panal**

Miel líquida que contiene uno o más trozos de panales operculados, exentos de larvas.

**1.2.2.- Otros estándares para la miel de abejas. Parámetros importantes de la miel**

Los estándares de la miel de abejas están normados a nivel de cada país como por ejemplo la normativa chilena por nombrar un ejemplo cercano a nuestra realidad, pero también existen estándares internacionales como lo son el Codex Alimentarius y la Unión Europea pero, además, es la normativa boliviana que está basada en estos estándares la que nos da nociones más claras tanto de exigencias como técnicas analíticas para nuestro fin. Esta será la base para el presente estudio.

Para la mejor comprensión de estos estándares y la apropiación de conceptos es que los mismos se detallan a continuación.

Durante el mes de Febrero del 2000, se efectuó una reunión del Comité del Codex Alimentarius de la FAO-OMS para definir los estándares internacionales para la miel de abejas. Tales estándares son de gran relevancia en el mercado, a fin de constituir la base de intercambios mundiales de este producto de la colmena; sin embargo, este encuentro ha puesto en evidencia la diversidad de criterios de calidad confirmada por varios países. Los elementos "objetivos" de la calidad de la miel de abejas son extremadamente simples y pueden reducirse a dos fundamentales y válidos para todos:

- Genuinidad (la miel de abejas no debe adulterarse).
- Higiene (la miel de abejas no debe contener sustancias nocivas).

Además de estos, en diversos países se han confirmado otros parámetros cualitativos. Para los europeos, el concepto de calidad está fuertemente ligado a la genuinidad e integridad del producto. En Estados Unidos, es prioritario el aspecto higiénico y la presentación constante y homogénea. En los países tropicales, la miel de abejas es por lo general extremadamente fluida; las mieles cristalizadas resultan extrañas. En algunos países se consideran mejores las mieles más oscuras por su sabor más intenso; sin embargo para otros, las mieles claras tienen un gusto más delicado.

Los criterios cualitativos aceptados en Europa se basan esencialmente en tres elementos fundamentales:

- Limpieza.
- Frescura.
- Conservabilidad (referida al bajo contenido de humedad).

La miel de abejas de buena calidad puede eventualmente valorizarse mediante una denominación relacionada con el origen botánico (mieles monoflorales) o con el origen geográfico. Los controles para verificar la calidad y el origen de la miel de abejas se basan en tres aproximaciones analíticas:

- Análisis organolépticos.
- Análisis microscópicos.
- Análisis fisicoquímicos.

Según Luciana Prandin (2008), la miel de abejas puede ser considerada un producto natural por excelencia; sin embargo, en los últimos años ha sufrido los efectos de la industrialización y de la evolución de la producción agrícola. De esta última, puede resultar la contaminación con sustancias plaguicidas. A esto se suma la necesidad de suministrar sustancias acaricidas a las colmenas a fin de controlar las enfermedades de las abejas; esta rutina puede dejar residuos en la miel de abejas. Como se vio que son muchos los parámetros que se consideran importantes por los consumidores de



los distintos países, y a continuación se detallarán los análisis que aplican a la miel de abejas.

### **1.2.3.- Análisis de Mieles**

Para poder comercializar exitosamente la miel en el mercado nacional e internacional, es indispensable conocer cabalmente las exigencias específicas de cada país; por lo tanto, se deben necesariamente conocer las características de nuestras mieles para saber con certeza si éste cumple o no con las normativas; para ello existen distintos tipos de análisis que persiguen distintos objetivos los mismos se detallan a continuación:

### **1.2.4. Análisis palinológicos**

Determinación del contenido y porcentaje de los granos de polen por especie en la miel, a fin de conocer las plantas de cuyas flores las abejas obtuvieron los diferentes néctares. Esto tiene mucha importancia comercial en Europa. Allí, las mieles locales una vez que han sido extraídas de los panales por centrifugación, son sistemáticamente analizadas de esta manera, para conocer su origen floral y geográfico. Este conocimiento ha repercutido en el control de calidad de las mieles europeas y sobre todo en los precios de las mieles en el mercado europeo, las cuales se cotizan según su origen botánico y geográfico.

### **1.2.5.- Análisis ecología microbiana**

Según Zandamela (2008) la miel es un alimento de humedad intermedia, presenta una flora que se adapta a las condiciones poco favorables para el crecimiento en este producto debido a un pH ácido, humedad y actividad de agua ( $a_w$ ) bajas, una elevada viscosidad, concentración en azúcares y presión osmótica altas, por lo que la hacen un sustrato poco apto para el desarrollo microbiano, aunque la supervivencia en ella es posible.

La miel, tiene una flora microbiana original que le es propia, introducida por las abejas, como esporas de diversas especies de bacilos, mohos, levaduras banales u osmófilas (Zandamela, E.M.F. 2008). Además de la microflora original otros

microorganismo pueden incorporarse al alimento dependiendo de las condiciones de obtención en la que influiría el propio hombre, las manipulaciones, los locales, los aparatos, los recipientes, los insectos predadores, roedores, animales de compañía los cuales pueden aportar una contaminación secundaria a tenerse en cuenta por la presencia de gérmenes patógenos como Salmonella.

Entre los gérmenes patógenos para la abeja, que pueden pasar a la miel, se encuentran *Bacillus larvae*, *Bacillus alvei*, *Aspergillus flavus*, *Ascospheera apis*, *Ascospheera alvei*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* o *C. botulinum*. Las levaduras osmófilas (capaces de crecer a elevadas concentraciones de azúcar), se han hallado en el suelo del colmenar, procedentes de la cera, néctar y abejas muertas (Zandamela, E.M.F. 2008).

Según (Zandamela, E.M.F. 2008) la miel es un alimento muy seguro respecto a los peligros y riesgos sanitarios comunes que rodean a los alimentos tradicionales artesanales, pero es susceptible de alterarse merced a los posibles cambios ocurridos cuando han existido anomalías durante el procesado, envasado o conservación. Los principales grupos de bacterias en la miel que madura son especies de *Gluconobacter* y *Lactobacillus*, que desaparecen de la miel cuando el contenido de agua desciende al 18% aproximadamente.

Se han detectado microorganismos peligrosos para la salud del hombre como el *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo, *Bacillus cereus*, o incluso *Clostridium botulinum* tipo G en mieles italianas (Zandamela, E.M.F. 2008), aunque las esporas encontradas en este caso no causarían enfermedad al hombre salvo en circunstancias particulares. Han encontrado esporas de *Clostridium botulinum* en mieles brasileñas.

#### **1.2.6.- Parámetros de calidad**

En el compendio Técnico-histórico que se detalla a continuación se dan a conocer los principales datos técnico - históricos del estudio de las mieles.

La miel es esencialmente una solución acuosa concentrada de azúcar invertido, que contiene además una mezcla muy compleja de otros hidratos de carbono, diversas

enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, sustancias aromáticas, pigmentos, ceras, granos de polen, etc., (Zandamela, E.M.F. 2008).

Las principales características que definen una miel son: el color, el aroma, el flavour, grado de cristalización, cuerpo y composición química. La composición dependerá principalmente de dos factores: el néctar de origen y los factores externos como son las condiciones climáticas, los métodos de extracción, el tiempo y condiciones de almacenamiento, así como las características y tipo de suelo (Zandamela, E.M.F. 2008).

Por otro lado, el consumidor debe adquirir una miel plena de cualidades organolépticas, exenta de alteraciones físico-químicas o bioquímicas, que hagan suponer una desviación de los procesos normales de extracción, envasado y almacenamiento del producto.

Las propiedades físico-químicas, composición y polen de las mieles de brezo (*Calluna vulgaris*) producidas en España, fueron estudiadas por Serra y Granados (1993).

En general, la miel producida en varios países ha sido objeto de estudio y numerosas publicaciones confirman la posibilidad de caracterización de miel por la determinación de parámetros fisicoquímicos seleccionados Zandamela (2008).

### **1.2.7. Parámetros físico-químicos de calidad**

#### **1.2.7.1. PH**

El pH es un parámetro de gran importancia a evaluar durante la obtención y almacenamiento de los alimentos por su influencia sobre el desarrollo de microorganismos y enzimas. Afecta además, a propiedades físicas del producto como la textura, estabilidad y resistencia.

Señala la acidez actual de la miel, lo que contribuye a dar estabilidad a este alimento frente a ataques microbianos (Sancho et al., 1991a). Se halla muy condicionado por el contenido en sales minerales, en especial de potasio, sodio y calcio y en mieles de

mielada puede aumentar su valor debido al efecto regulador de las sales tampones que contienen (Zandamela 2008).

Según Adams y Moss (1997) la acidez o la alcalinidad de un medio tienen una gran influencia en la estabilidad de macromoléculas tales como los enzimas, por lo que no resulta sorprendente que tanto el crecimiento como el metabolismo de los microorganismos estén influidos por el pH.

El pH de la miel oscila entre 3,4 y 6,1 con una media de 3,9 (Zandamela 2008). Esta variación depende de la procedencia botánica, siendo generalmente inferior o igual a 4 para mieles de tipo floral y superior a este valor para las mieles de mielada.

En un estudio realizado en mieles italianas, se observó que el pH disminuía ligeramente con el tiempo, aunque, se puede considerar un parámetro muy estable durante el almacenamiento. Se puede usar del pH-metro sobre una solución de miel en agua destilada al 20 % (w/v) para determinación del pH (Zandamela, E.M.F. 2008).

#### **1.2.7.2. Actividad de agua ( $a_w$ )**

La actividad de agua ( $a_w$ ) permite dar una idea más exacta de la disponibilidad potencial del agua en el alimento por los microorganismos, que la expresión del contenido total de humedad del producto. Se define como la relación que existe entre la presión parcial de vapor del agua en el alimento y la presión de vapor de saturación del agua pura a la misma temperatura (Zandamela, E.M.F. 2008).

$$a_w = P/P_0$$

P: presión parcial del vapor de agua del alimento.

$P_0$ : presión parcial del vapor de agua pura.

La actividad de agua de un alimento es un importante parámetro físico de utilidad para predecir su estado y estabilidad relativa con respecto a sus propiedades físicas, velocidad de las reacciones de alteración, actividad enzimática, así como el crecimiento y desarrollo de los microorganismos (Adams y Moss, 1997).

Adams y Moss (1997) indican que los alimentos de humedad intermedia, tienen baja posibilidad de alteración microbiana pero a veces puede ocurrir como consecuencia del almacenamiento incorrecto en un ambiente de humedad relativa elevada. Por otro lado *S. aureus* que puede crecer por debajo de una  $a_w$  de 0,83 no es capaz de producir toxina y con frecuencia es inhibido eficazmente por la combinación de la  $a_w$  con otras barreras antimicrobianas.

La miel se enmarca dentro de los alimentos de humedad intermedia, técnicamente muy seguros respecto a los peligros sanitarios habituales que rodean a los alimentos tradicionales artesanales, pero susceptibles de alterarse merced a los posibles cambios ocurridos cuando han existido anomalías de envasado o conservación.

Alcalá (1977) aporta datos sobre la  $a_w$  de diferentes muestras de miel, relacionándola con el crecimiento de microorganismos osmotolerantes, propiedades de sorción de humedad y retención de sustancias volátiles. Pero su influencia sobre el crecimiento microbiano se halla condicionada a su vez, por la presencia y actuación de otros factores como el pH, la temperatura, la concentración de oxígeno y dióxido de carbono, así como la presencia de sustancias inhibidoras.

Según Alcalá y Gómez (1990) la actividad de agua de la miel oscila entre 0,490 y 0,650 lo que la convierte en un alimento seguro frente a la actividad de numerosos microorganismos. En el caso de las mieles cristalizadas, el gradiente de concentración puede generar actividades de agua diferentes, permitiendo el crecimiento local de levaduras osmófilas.

Leveau y Bouix (1979) refieren el crecimiento de una cepa de *Z. bailii* aislada en la miel en  $a_w$  0,65. Por otro lado, según la  $a_w$  mínima para el crecimiento de un grupo de levaduras osmotolerantes inoculadas en miel fue superior a 0,68; en cambio encontraron en mieles naturales como límites para el crecimiento de levaduras osmotolerantes una  $a_w = 0,61/0,62$ .

Los procedimientos tradicionales para la determinación de la actividad de agua mediante equilibrio con disoluciones patrón son muy exactos pero resultan

engorrosos, lentos y no permiten obtener resultados en tiempo real. Por otro lado, los métodos instrumentales exigen una inversión económica importante y por todo ello, se ha recurrido en ocasiones el cálculo indirecto a partir de otros componentes. Algunos de los valores que se determinan usualmente de forma experimental, pueden ser obtenidos a través de cálculos indirectos con al menos el mismo grado de exactitud. Así pues, la actividad de agua se puede predecir multiplicando las  $a_w$  parciales de los diferentes solutos disueltos o a partir de fórmulas de regresión, partiendo de datos analíticos de otros componentes.

Para el cálculo de la actividad de agua según Zandamela, E.M.F. (2008) en función de la concentración de cada uno de sus solutos, se ha utilizado con frecuencia la ecuación de Norrish complementada con la ecuación de Ross, recomendada para alimentos de humedad intermedia (Chirife y Fontan, 1980). Sin embargo, las dificultades analíticas que comportan cada uno de los factores las hacen si no prohibitivas, muy poco prácticas de emplear.

Menos problemática lleva la aplicación de modelos estadísticos de regresión diseñados con variables fáciles de medir en el laboratorio, que aunque son muy restrictivos en su aplicación genérica, resultan efectivos en casos concretos y puntuales (Zandamela, E.M.F. 2008).

Zandamela, E.M.F. (2008), señaló la existencia de una relación positiva entre la actividad de agua y la humedad de la miel. En base a este hecho, se han elaborado varias ecuaciones de predicción de la actividad de agua de la miel a partir del contenido en humedad, como la de Acalá y Gómez (1990) en mieles comerciales, en mieles de Gran Canaria, la calcularon en función de la humedad y la composición en diversos azúcares (Glucosa, fructosa y sacarosa). Zandamela, E.M.F. (2008) refieren a la necesidad de conocer la actividad de agua para predecir el cambio de la humedad en ambiente, una vez la  $a_w$  sea el motor de la transferencia del agua de y para la miel. Ellos han realizado un análisis teórico de la actividad de agua, en soluciones de azúcares y miel en la cual encontraron estrecha correlación entre la actividad de agua

y el % de humedad en que fue diseñada una ecuación de regresión satisfactoria en mieles argentinas.

Zamora et al. (2006), con el objetivo de examinar la base teórica de la  $a_w$  de la miel y su correlación natural con porcentaje de humedad, determinaron la actividad de agua en altas concentraciones de glucosa, fructosa y fructosa: glucosa (1:1) y compararon con los datos  $a_w$  de la miel existentes en la literatura, de diferentes fuentes botánicas y geográfico. Los resultados obtenidos seguían la misma correlación y también hubo una relación lineal aparente entre la  $a_w$  y los contenidos sólidos con la ecuación  $a_w = 0,890 - 0,0007 X$  y el coeficiente de correlación de 0,995.

### **1.2.7.3. Conductividad eléctrica**

Toda la parte teórica de la conductividad fue extraída de Zandamela, E.M.F. (2008) donde nos dice que la conductividad eléctrica de la miel está relacionada con el contenido en sales minerales, ácidos orgánicos, proteínas y polioles y probado como un parámetro útil para discriminar los diferentes orígenes florales de las mieles, por eso varios autores han sugerido la medición de la conductividad eléctrica como una técnica indirecta para determinación de contenido de minerales en algunos alimentos. Es un valor estable que no varía significativamente durante el almacenamiento de la miel y que además indica si las abejas han sido alimentadas artificialmente con azúcares.

Es un factor que presenta variabilidad según el origen botánico, dándose valores más altos en las mieles de bosque que en las florales, se observó que mieles de un mismo origen floral presentan conductividades eléctricas muy semejantes apesar de tener orígenes geográficos y condiciones climatológicas diferentes. Sin embargo, no se ha encontrado correlación entre las conductividades eléctricas y los contenidos en polen.

Este parámetro, que depende del contenido de minerales disueltos en el agua de miel, permite una medición mucho más rápida y menos costosa que la de las cenizas, con resultados que muestran buena repetitividad de los datos.

Se analizaron los distintos componentes físico-químicos, elementos de mielada, sedimento, origen floral y tendencia a la granulación de 115 muestras de miel procedentes del País Vasco. Encontraron que la conductividad eléctrica de soluciones de miel conteniendo un 20% de materia seca podía ser estimada multiplicando por 1,50 la de soluciones de 10 g de miel en 75 ml de agua . Así mismo, se elaboraron fórmulas de predicción de las cenizas totales y sulfatadas en base a la conductividad eléctrica de la miel. Posteriormente (1992), estudiaron en 30 mieles del País Vasco, la conductividad eléctrica, las cenizas solubles e insolubles, la alcalinidad de las cenizas solubles e insolubles y la alcalinidad total de las cenizas, encontrando que todas podían ser estimadas a partir de los valores de conductividad eléctrica medida a 20° C en soluciones de 10g de miel en 75 ml de agua.

#### 1.2.7.4. Tipos de acidez.

La acidez de un producto puede tener importantes implicaciones tanto en su ecología microbiana como en la rapidez y naturaleza de su alteración (Zandamela, E.M.F. 2008).

Según Zandamela (2008) la acidez protege a la miel de los ataques microbianos y contribuye a otorgarle aroma, aunque no sea advertido en el sabor al estar enmascarada por el dulzor de los azúcares. Fue atribuida durante mucho tiempo al ácido fórmico adicionado a la miel por la abeja al depositar una gota de veneno durante la operculación de las celdillas. Sin embargo, se ha puesto en evidencia la existencia de al menos veinte ácidos orgánicos en la miel: ácido acético, cítrico, láctico, málico, oxálico, succínico, butírico, fórmico, hidrociorhídrico, fosfórico, piroglutámico y glucónico, entre otros. El ácido glucónico es considerado el principal ácido de la miel.

Los ácidos de la miel se originan fundamentalmente a partir de las secreciones de las glándulas salivares de la abeja que producen los procesos enzimáticos y fermentaciones. Esta acidez se debe a la presencia de ácidos orgánicos en equilibrio con sus lactonas y a algunos iones inorgánicos como fosfatos, cloratos y sulfatos,



cuyos ácidos correspondientes son constituyentes de la miel (Zandamela, E.M.F. 2008)

Por otro lado, si la miel es calentada en exceso se puede formar hidroximetilfurfural por deshidratación de las hexosas, el cual a su vez se descompondrá en ácidos levulínico y fórmico, contribuyendo ambos a dar cifras de acidez mayores (Zandamela, E.M.F. 2008).

Según Zandamela, E.M.F. (2008) Cherchi , encontró una gran variabilidad en la composición cuantitativa y cualitativa de la fracción ácida, debido posiblemente a los diferentes orígenes de los ácidos orgánicos de la miel. En ella se pueden distinguir tres tipos de acidez: libre, lactónica y total.

Esta última es la suma de la libre y la lactónica. La relación acidez lactónica /acidez libre es la que más orienta sobre el origen botánico de la miel: floral o de mielada.

La acidez lactónica constituye una reserva de acidez ya que origina ácidos cuando la miel se alcaliniza. Las lactonas están constituidas básicamente por las glucolactonas, que están en equilibrio con el ácido glucónico formado por acción de la glucosidasa sobre las glucolactonas. La reacción de transformación es lenta en mieles muy densas, y muy rápida en mieles fluidas. La cantidad de ácido obtenida dependerá del volumen de flujo del néctar, de su calidad, del tiempo transcurrido entre la recolección del néctar y de la repleción de la celda. La actividad de la glucosidasa continúa después de la extracción de la miel, salvo que ésta haya sido destruida por el calor durante el procesado. Según Zandamela, E.M.F. (2008) White, encontró valores de pH extremadamente altos en mieles de Estados Unidos que no presentaban acidez lactónica. Igualmente, en 1991 en un estudio realizado en mieles del País Vasco, observaron que aquellas con menor acidez lactónica presentaban un pH más elevado. Concluyendo que la acidez libre no está, en cambio, directamente relacionada con el pH.

La acidez de la miel también está fuertemente asociada al contenido de glucosa. Este monosacárido es convertido, a través de la enzima D-glucosa oxidasa, en ácido

glucónico, el cual constituye del 70 al 90% de los ácidos orgánicos de la miel. La acidez de la miel está regida por la presencia de ese ácido y de su lactona. Durante el proceso de conversión de la glucosa en ácido glucónico también se forma peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), responsable de las propiedades antibacterianas en la miel (Zandamela, E.M.F. 2008).

Mediante la acción microbiana, el alcohol procedente de la fermentación de los azúcares se transforma en ácido, de ahí la exigencia legal de su determinación. La acidez es un importante criterio de calidad y puede variar en un amplio rango permitiéndose un máximo de 50 meq/kg en general. Sin embargo, se describen mieles que de forma natural y recién extraídas presentan una acidez libre mayor que el límite legal estipulado, sin que por ello planteen problemas de fermentación, conservación, ni alteración.

Ambos tipos de acidez libre y lactónica, aumenta durante el almacenamiento, siendo mayor el incremento de las lactonas que de los ácidos libres. El contenido en lactonas de la miel fresca no está correlacionado con su contenido en las mieles almacenadas, pero sí existe una correlación entre los ácidos libres antes y después del almacenamiento (Zandamela, E.M.F. 2008). Se observó que durante el envejecimiento de la miel, aumentó la acidez debido a la acción de la glucosidasa que transformaba los azúcares en ácidos. Pero no se encontró una correlación entre este aumento de la acidez y el modo de conservación de la miel.

La titulación de la acidez total resultante de la hidrólisis de las glucolactonas, es un difícil proceso empírico debido a la falta de nitidez del punto final del ensayo. Actualmente, se determina la acidez libre mediante valoración potenciométrica con un álcali hasta pH 8,5 y la lactónica por retroceso, tras la adición de un exceso conocido de base (AOAC, 2003).

#### **1.2.7.5. Sólidos insolubles y sólidos totales**

El contenido de sólidos insolubles es un parámetro de gran importancia para detectar el grado de impurezas en la miel (Zandamela, E.M.F. 2008) durante la obtención por

su influencia en la calidad de la miel. Afecta además, a propiedades físicas del producto como la textura, estabilidad y resistencia.

#### **1.2.7.6. Color**

Según Zandamela, E.M.F. (2008) el color es la percepción de la luz de una cierta longitud de onda reflejada por un objeto. Se incluye dentro de las propiedades ópticas de la apariencia que dependen de las modificaciones cromáticas y geométricas de la luz en la interacción con el alimento, forma física y modo de presentación. El color de la miel puede variar desde casi incoloro hasta rojo oscuro, pasando por tonalidades amarillas, ámbar y marrones con matices verdes y rojos. La tonalidad que presenta la miel es un factor importante de clasificación desde el punto de vista comercial, reportaron que en Alemania, Suiza y Australia las mieles oscuras son las más apreciadas. y los consumidores Irlandeses prefieren mieles de color oscuro.

El color de la miel es uno de los atributos de mayor variabilidad y que principalmente son determinados por su origen botánico, pero también dependen de su contenido en cenizas, temperatura y tiempo de almacenamiento. En 1999 estudiaron el cambio del color inicial de la miel durante el almacenamiento y su relación con la composición. La determinación del color es indicada como una herramienta útil para la clasificación de las mieles.

El color puede definirse como el resultado de la interacción entre tres elementos diferentes: un foco de luz, el objeto iluminado y el observador. Los ojos y el cerebro humanos son capaces de distinguir variaciones sutiles en los tonos de los colores. Esta percepción del color está afectada por muchos factores y no solo varía de un observador a otro, sino que varía para el mismo observador, en función del entorno y el tipo de luz, ya que son factores subjetivos.

### **1.2.8.- Parámetros químicos de la miel**

#### **1.2.8.1. Humedad**

La miel es un producto que se encuadra dentro de los alimentos tradicionales de

humedad intermedia. El estado del agua en la miel está sujeto a variaciones debido a que con cierta frecuencia durante el almacenamiento se producen fenómenos de cristalización, provocando un aumento de la cantidad de agua en las capas superiores (Zandamela, E.M.F. 2008).

Además, debido a su gran higroscopicidad, la capa superficial de la miel tiende a captar agua del medio ambiente, de esta manera, la humedad cambia hasta alcanzar un equilibrio con la humedad ambiental. De ahí que las mieles almacenadas en lugares húmedos presenten un contenido acuoso mayor y sean más susceptibles de sufrir crecimiento microbiano (Zandamela, E.M.F. 2008).

El contenido en agua de la miel suele oscilar entre un 13 y un 25 %, dependiendo de las condiciones climáticas, de la estación, de la humedad original del néctar y del grado de maduración alcanzado en la colmena. La Norma de calidad de la miel, admite un máximo de un 20 % de humedad salvo para la miel de Calluna, que puede alcanzar hasta el 23 %.

La influencia de la humedad de la miel en el desarrollo fúngico alterante y banal ha sido estudiada, también, por Taberly y Monteiro, en 1961. Este parámetro influirá decisivamente en la conservación ya que es la fase donde se llevan a cabo la mayoría de reacciones de transformación y alteración. También condiciona el color, palatabilidad, sabor, peso específico, solubilidad y valor comercial de la miel, además de estar relacionada con la concentración y variedad de los azúcares de composición y con los procesos de cristalización.

También es muy importante determinar el momento en que se debe realizar la recolección, pues se debe esperar que la eliminación del agua esté bastante avanzada para que el producto obtenido tenga la máxima de calidad y garantías de conservación.

La fermentación de las mieles depende esencialmente de la contaminación inicial, el tiempo y temperatura de almacenamiento y el contenido en humedad, siendo esta última la causa más importante. De hecho, muchos autores están de acuerdo en que

mieles con un contenido en humedad inferior al 17,1% no fermentan, en cambio en aquellas con humedad entre 17,1 y 20 %, la aparición de la fermentación dependerá de la carga microbiana. Los contenidos en humedad por encima del 20% permiten el crecimiento de levaduras. Mieles con contenidos en agua inferiores al 14 % son excesivamente viscosas y difíciles de extraer y utilizar (Zandamela, E.M.F. 2008).

Por otro lado, como parámetro de calidad, es importante su relación con la fermentación, pues la granulación aumenta el contenido de agua libre, haciendo a la miel susceptible de ataque microbiano. Las condiciones de almacenamiento y envasado deben ser adecuadas para que no haya pérdida de la calidad del producto, pues si la temperatura es alta, la miel corre riesgo de fermentar si la humedad es elevada (superior al 18,5 %), o de cristalizar mal.

El glicerol es un componente minoritario de la miel, probablemente producido por los microorganismos presentes en el néctar y mieladas recogidas por las abejas, por lo que puede ser considerado un producto de la fermentación. La producción de glicerina se favorece principalmente por la presencia de contenido de agua del 20% o más, condiciones aeróbicas y bajos contenidos de fosfatos, mientras que la fermentación anaeróbica tiende a producir etanol.

Entre los distintos métodos usados para la determinación del contenido en agua de la miel, cabe destacar los siguientes:

a) Por la eliminación del agua por desecación de la muestra y su medida por la pérdida de peso, recomendada por la AOAC (2000). Debido a la sensibilidad de los azúcares a las altas temperaturas, la desecación se debe realizar a baja presión (<50 mm Hg) y temperatura (60-70°C). Generalmente se añade un agente desecante inerte para aumentar el volumen y porosidad de la muestra. También se puede añadir agua a la muestra una vez pesada, con el objetivo de facilitar su manipulación.

b) Mediante métodos químicos, fundamentalmente el de Karl-Fischer, que permite la valoración específica del agua. Está basado en que el agua reacciona cuantitativamente con el reactivo de Karl-Fischer, que consiste en una solución de

dióxido de azufre, piridina y yodo en metanol anhidro. La exactitud del método depende del control de la humedad relativa del medio ambiente. Como modificación, el análisis directo de la muestra de miel sin realizar diluciones en metanol de la misma, obteniendo buenos resultados.

Actualmente el método oficial en España y el de la AOAC (2000), es el de la medida del índice de refracción de la miel a 20°C, método estudiado por Bryan en 1908, propuesto por Chataway en 1932 y revisada por Wedmore en 1955. No obstante, Simal en 1983 comprobó que presentaba resultados aleatorios en comparación con la determinación de la humedad mediante desecación al vacío y el método de Karl-Fischer.

Existen además, otros métodos de determinación menos usados como la densimetría, destilación, análisis polarimétricos e infrarrojos, entre otros.

#### **1.2.8.2. Azúcares.**

Según (Zandamela, E.M.F. 2008) el contenido de azúcar de los néctares de las diferentes plantas varía desde aproximadamente el 5% hasta el 80%. Los azúcares son el constituyente mayoritario de la miel, representado del 95-99% de la materia seca. Se les atribuye gran parte de las cualidades de la miel como la viscosidad, propiedades térmicas, tendencia a la granulación, higroscopicidad, poder rotatorio, etc.

Así mismo, junto con otras sustancias como los ácidos, los compuestos nitrogenados y minerales, contribuyen decisivamente en el sabor de la miel. La composición en azúcares es útil para valorar el grado de pureza de la miel, durante mucho tiempo se pensó que la fracción de azúcares en la miel estaba compuesta básicamente por glucosa y fructosa, con algo de sacarosa y dextrinas en cantidades menores. Sin embargo, los nuevos métodos de análisis y separación de azúcares han puesto en evidencia la presencia de más de 30 azúcares diferentes (Zandamela, E.M.F. 2008).

Se han descrito, los siguientes di- y tri-sacáridos, aunque algunos de ellos sólo están presentes a nivel de trazas y en unas pocas muestras y otros no han podido ser aún confirmados (Tabla I-1).

Para conocer la formación de los glúcidos en la miel se requiere conocer los procesos enzimáticos que tienen lugar en la vesícula melífera de la abeja. Por otro lado, tanto la cantidad de néctar como su riqueza en glúcidos, son extremadamente variables, incluso dentro de una misma planta, debido a las condiciones externas (Zandamela, E.M.F. 2008).

La mayor parte de los azúcares no se encuentran en el néctar, sino que se forman durante la maduración y almacenamiento de la miel, siendo el resultado de diversos procesos enzimáticos, del proceso de transformación del néctar en miel y de las distintas reacciones no enzimáticas que se suceden. Los diferentes tipos de miel suelen tener los mismos azúcares aunque en cantidades variables, estando su porcentaje relacionado con la flora y en una menor influencia con el clima y origen geográfico. La propia fracción oligosacárida viene determinada, preferentemente, por las plantas a partir de las cuales las abejas obtienen el néctar. Las mieles de colores pálidos contienen más oligosacáridos que las oscuras, aunque éstas últimas son ricas en dextrinas (Zandamela, E.M.F. 2008).

Varios autores han encontrado una correlación entre la composición en azúcares y el origen botánico de la miel, pero la gran variedad de métodos analíticos empleados hacen difícil la comparación directa de los resultados. La composición en azúcares puede ser usada para diferenciar mieles de flores de las de mielada y sus mezclas.

Según Zandamela, E.M.F. (2008), en un estudio realizado en mieles de Galicia, obtienen como resultado que se trata, en su mayoría, de mieles de mielada y sus mezclas con las mieles de flores. Paralelamente, realizaron un estudio comparado entre estas mieles y mieles comerciales, observando que estas últimas, por su contenido azucarado, correspondían al tipo floral. Los dos azúcares cuantitativamente predominantes en la miel son la fructosa y la glucosa, que representan del 85 al 95%

del total, estando la fructosa en mayor concentración con un 38% por término medio y la glucosa con un 31%.

**Tabla I-1 Di y trisacáridos de la miel, según (Zandamela, E.M.F. 2008).**

Nomenclatura trivial	Nomenclatura sistemática
<b>Disacaridos</b>	
Celobiosa <sup>2</sup>	O-β-D-glicopiranosil-(1→4)-D-glicopiranososa
Gentiobiosa <sup>2</sup>	O-β-D-glicopiranosil-(1→6)-D-glicopiranososa
Isomaltosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-D-glicopiranososa
Isomaltulosa <sup>4</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-D-fructofuranosa
Kojibiosa <sup>1</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→2)-D-glicopiranososa
Laminaribiosa <sup>3</sup>	O-β-D-glicopiranosil-(1→3)-D-glicopiranososa
Leucrosa <sup>4</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→5)-D-fructofuranosa
Maltosa <sup>1</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-D-glicopiranososa
Maltulosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-D-fructosa
Melibiosa <sup>4</sup>	O-α-D-galactopiranosil-(1→6)-D-glicopiranososa
Neotrehalosa <sup>3</sup>	O-α-D-glicopiranosil- β-D- glicopiranosido
Nigerosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→3)-D-glicopiranososa
Palatinosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-D-fructosa
Sacarosa <sup>1</sup>	O-α-D-glicopiranosil- β-D- fructofuranósido
Turanosa <sup>1</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→3)-D-fructosa
<b>Trisacáridos</b>	
Centosa <sup>4</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-O-α-D-glicopiranosil-(1→2)-D-glicopiranososa
1-cestosa <sup>4</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→2)-β-D-fructofuranosil-(1→2)-β-D-fructofuranósido
Erlosa <sup>1</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-α-D-glicopiranosil-β-D-fructofuranósido
4- α-gentiobiosilglicosa <sup>4</sup>	O-β-D-glicopiranosil-(1→6)-O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-D-glicopiranososa
3-α-isomaltosilglicosa <sup>4</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-O-α-D-glicopiranosil-(1→3)-D-glicopiranososa
Isomaltotriosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-D-glicopiranososa
Isopanosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-D-glicopiranososa
Laminaritriosa <sup>4</sup>	O-β-D-glicopiranosil-(1→3)-O-β-D-glicopiranosil-(1→3)-D-glicopiranososa
Maltotriosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-D-glicopiranososa
Melizitosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→3)-O-β-D-fructofuranosil-(2→1)-α-D-glicopiranosido
Panosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-D-glicopiranososa
Rafinosa <sup>2</sup>	O-α-D-galactopiranosil-(1→6)-O-α-D-glicopiranosil-β-D-fructofuranósido
Teanderosa <sup>2</sup>	O-α-D-glicopiranosil-(1→6)-α-D-glicopiranosil-β-D-fructofuranósido

<sup>1</sup> Mayoritarios <sup>2</sup> Minoritarios <sup>3</sup> Trazas <sup>4</sup> No confirmados



Solo algunas excepciones como la miel de diente de león (*Leontodon autumnalis*, L), de colza (*Brassica napus*, L) presentan un contenido en glucosa mayor que en fructosa. El valor medio de la relación Fructosa/Glucosa es 1,2:1. Son muy raras las mieles de flores con cantidades superiores de glucosa, aunque hay algunas como la miel de colza. Las mieles de mielada son pobres en ambas hexosas.

La concentración de la sacarosa es muy variable, dependiendo del tipo de miel y de su estado de maduración (Zandamela, E.M.F. 2008). Altos contenidos en sacarosa pueden ser debido a una maduración inadecuada, presencia de mielatos o alimentación artificial de las abejas con jarabe de sacarosa durante mucho tiempo.

La sacarosa no es un adulterante potencial ya que los azúcares invertidos pueden ser añadidos a la miel en cantidades considerables sin que quede fuera de los rangos establecidos por la legislación. Parece ser que ciertos tipos florales dan lugar a mieles con elevados contenidos en sacarosa, a veces superiores al límite del 10% marcado por las normativas internacionales para las mieles de espliego, acacia y mielada (Anónimo, 2001a; Anónimo, 2003). Las mieles frescas de *Citrus* spp españolas no podrían ser comercializadas por el alto contenido en sacarosa que presentan, superior al límite legal, encontraron mieles florales australianas también con un contenido en sacarosa superior al 5% establecido por la legislación para mieles florales, pero al constatar que se trata de mieles no adulteradas, suponen que es debido a la composición anormal en azúcares de esas mieles. Se ha observado que estos altos porcentajes pueden disminuir durante el almacenamiento. En cambio, las mieles de eucalipto presentan un bajo contenido en sacarosa, significativamente diferente a otras mieles monoflorales españolas.

Además de los principales constituyentes señalados, los monosacáridos fructosa y glucosa, están los componentes menores, que consisten en unos 25 oligosacáridos (di-tri- y tetrasacáridos). La miel es una mezcla extremadamente compleja y variable de azúcares y otros componentes que al envejecer sufre cambios en la composición de azúcares, aumentando los disacáridos reductores y la sacarosa a costa del descenso en el contenido en fructosa y glucosa. De forma

natural, la miel de mielada presenta un contenido más bajo en azúcares reductores y mayor en sacarosa y melecitosa (Zandamela, E.M.F. 2008).

Con el tiempo, el contenido en monosacáridos disminuye y en cambio aumentaban los disacáridos y trisacáridos en mieles almacenadas a temperatura ambiente. Estos cambios fueron atribuidos a las reacciones enzimáticas y a la reversión ácida, fenómeno por el que se combinan los monosacáridos debido a la alta concentración en azúcares y la acidez de la miel (Zandamela, E.M.F. 2008).

### **1.2.8.3. Cristalización de la miel.**

La miel es una solución sobresaturada de azúcares, por lo que alcanza el equilibrio con la cristalización, tendiendo a granular en la mayoría de los casos (Zandamela, E.M.F. 2008). Esta es debido a la precipitación de los cristales de glucosa cuyo crecimiento provoca la separación de la miel en dos fases, una fase sólida constituida por cristales de glucosa y otra fase superior líquida con un mayor contenido en agua, lo cual favorece el crecimiento microbiano y las fermentaciones. Esta cristalización de la miel es un fenómeno natural cuya velocidad varía dependiendo de factores como el contenido en agua, la composición en azúcares y la temperatura de conservación. Cuando la cristalización es lenta, el tamaño de los cristales es mayor. Las mieles cristalizadas no suelen tener buena aceptación por parte de los consumidores y además presentan el riesgo de fermentación si la granulación no es homogénea.

Cuando la temperatura de almacenamiento es de 5 a 7°C se favorece la creación de cristales de glucosa, siendo más rápida la cristalización a 14°C. Las bajas temperaturas (por debajo de los 10°C) retrasan el crecimiento de los cristales, que cesa a partir de los 25° C. Los cristales desaparecen a 78° C (Zandamela, E.M.F. 2008)..

La granulación se ve favorecida por la existencia de núcleos de cristalización que actúan aglutinando a su alrededor las moléculas de azúcar; los más frecuentes son los

microcristales de glucosa de diferente tamaño, granos de polen, partículas de cera, polvo y burbujas de aire. La mayoría de ellos están presentes en todas las mieles.

Al aumentar la viscosidad se inhibe la cristalización ya que la migración de los cristales de glucosa en la fase líquida será muy lenta. Otro efecto importante, es que durante el llenado de los contenedores de miel se pueden quedar atrapadas pequeñas burbujas de aire que actúan como núcleos de cristalización, pero en las mieles más fluidas, estas burbujas pueden escapar con mayor facilidad que en las mieles más viscosas. Las mieles con un contenido de agua menor a un 17% tienen más posibilidades de granular que las que presentan un porcentaje mayor.

La fructosa inhibe la cristalización ya que aumenta la solubilidad de la glucosa en la miel. En general, las mieles con un porcentaje menor al 30% de glucosa tienden a cristalizar más lentamente, al igual que las que poseen menos del 10% de melecitosa (Zandamela, E.M.F. 2008).

En 1962 White, demostró estadísticamente que la tendencia de la miel a cristalizar está relacionada con la proporción entre la concentración de glucosa y la cantidad de agua (glucosa/agua). Para valores inferiores a 1,60 la cristalización es prácticamente nula o muy lenta, en cambio valores superiores a 2 es más rápida y completa.

#### **1.2.8.4. Elementos minerales. Cenizas**

El porcentaje de minerales en la miel es muy bajo en comparación con otros componentes; sin embargo, existen en una gran variedad siendo el potasio el elemento más común, correspondiendo prácticamente a un tercio del contenido en cenizas, seguido por el sodio con una décima parte (Zandamela, E.M.F. 2008). Por otro lado, refieren al potasio como el elemento más abundante en la miel seguido de cloro, azufre, sodio, fósforo, magnesio, silicio, hierro y cobre. Estos componentes la convierten en un producto con un valor alimenticio superior a los azúcares refinados y jarabes. Además, influyen en su color y en el sabor, de modo que las mieles con una mayor cantidad de cenizas son más oscuras y de sabor más fuerte (Zandamela, E.M.F. 2008).

La cantidad y variedad de los minerales que contiene la miel se encuentran influidas por los nutrientes que originalmente puede contener la planta, la disponibilidad de éstos en el suelo, así como por las contaminaciones del suelo y medio ambiente. En un estudio realizado por Serra y Cañas (1988) sobre mieles de eucalipto de Huelva, se encontraron niveles de plomo superiores a 1 ppm originados por la contaminación medio ambiental procedente de las industrias petroquímicas de la zona. Por lo tanto, el exceso o defecto de ciertos elementos químicos en suelos, rocas o en el agua, quedará reflejado en la composición química mineral de las plantas y, por consiguiente, en el néctar y polen, existe mucha variación en los datos reportados por diversos investigadores, aunque a los efectos de la evaluación del ambiente en que la miel ha sido producida, se prefiere analizar el contenido de ciertos metales pesados como plomo, cadmio, zinc, (Zandamela, E.M.F. 2008).

El parámetro tradicionalmente utilizado para medir el contenido de minerales es la cantidad de cenizas presentes en las muestras de la miel. Sin embargo, en los últimos años se ha propuesto agregar la conductividad, que es un parámetro que depende del contenido de minerales disueltos en el agua de la miel, permite una medición mucho más rápida y menos costosa que la de las cenizas, con resultados que muestran buena repetibilidad de los datos.

El contenido en cenizas de la miel, término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de oxidar totalmente la materia orgánica, está relacionado con la conductividad eléctrica, encontraron una correlación positiva entre la conductividad eléctrica de soluciones de miel al 20% de materia seca y su contenido en cenizas totales. Posteriormente, determinaron que a partir de la conductividad eléctrica medida en materia húmeda a 20° C, podían predecirse las cenizas totales, sulfatadas, solubles e insolubles y su alcalinidad correspondiente en la miel (Zandamela, E.M.F. 2008)..

También se relaciona el contenido en cenizas con el origen de la miel: floral o mielada, siendo superior en éstas últimas. Anónimo (2003), establece un contenido máximo de cenizas en 0,6% para las mieles florales y en un 1% para las de mielada.

Las abejas alimentadas artificialmente presentan una miel con contenidos menores en potasio y mayores en calcio que en mieles de flores.

La determinación de cenizas se hace básicamente por el procedimiento de incineración. En la preparación de la muestra antes de la calcinación para evitar pérdidas de la muestra y sus consiguientes errores, los autores siguen diversas variantes.

#### **1.2.8.5. Frescura de la miel**

El grado de frescura de la miel es valorado mediante la medida de dos índices: actividad diastásica y contenido en hidroximetilfurfural.

Aun cuando el contenido enzimático no es considerado de utilidad para evaluar la calidad de la miel en algunos países. En Europa la actividad diastásica y el hidroximetilfurfural siguen siendo utilizados en la evaluación de la frescura de la miel y ambos pueden ser usados como indicadores del procesado de la miel y de las condiciones de almacenamiento (Zandamela, E.M.F. 2008).

El procesado de la miel lleva consigo tratamiento con calor, lo que hace disminuir las enzimas y aumentar el contenido en hidroximetilfurfural. Pero sólo tratamientos abusivos llevarían a estos índices fuera de los límites establecidos por la legislación.

#### **1.2.9. Análisis relacionados con la inocuidad**

Aparte de los ya mencionados análisis microbiológicos también son muy importantes:

##### **1.2.9.1. Residuos de antibióticos**

Importante si se quiere exportar a Europa. Allí existe una legislación detallada sobre los residuos no permitidos, o permitidos debajo de un LMR (Límite Máximo de Residuos) en la miel. Se puede encontrar allí si los apicultores los han usado: nitrofuranos, cloranfenicol, etc. O si las colmenas han sufrido fumigaciones al estar cerca de algún cultivo fumigado (DDT, órganoclorados etc.)

También se pueden analizar la presencia de metales pesados (mercurio, plomo presente en algunas pinturas, etc.) y otros productos tóxicos. Por eso también es muy

importante extraer la miel con maquinaria limpia (sin grasa, sin sarro, etc.) y almacenarla en barriles limpios, y obviamente que no hayan contenido pesticidas ni combustibles (Esteban G. Dussart e Yves Bartolomé, Octubre de 2007)

También es importante conocer la clasificación y tipos de miel estandarizados y así poder denominar de forma correcta nuestro producto para ello se detallan a continuación los tipos de miel.

### **1.2.10.- Normativas de la miel de abejas**

#### **1.2.10.1- Normativa según anónimo.-**

Los requisitos que debe reunir la miel, de acuerdo con (Anónimo, 2001<sup>a</sup> y Anónimo, 2003) son:

#### **CARACTERISTICAS SENSORIALES**

- El color será variable desde casi incolora hasta pardo oscuro, pero siendo uniforme en todo el volumen del envase que la contenga.
- El sabor y aroma, deberán ser característicos y estar libre de sabores y aromas extraños.
- La consistencia, podrá ser fluida, viscosa o cristalizada total o parcialmente.

#### **•CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS**

- Madurez

a) Azúcares reductores (calculados como azúcar invertido)

Miel de flores: mínimo 65%.

Miel de mielada y su mezcla con miel de flores: mínimo 60%.

b) Humedad: máximo 20%.

c) Sacarosa aparente:

Miel de flores: máximo 5%.

Miel de mielada y sus mezclas: máximo 10%.

- Limpieza

a) Sólidos insolubles en agua: máximo 0,1%, excepto en miel prensada que se tolera hasta el 0,5%.

b) Minerales (cenizas): máximo 0,6%. En miel de mielada y sus mezclas con mieles de flores se tolera hasta 1%.

- Deterioro

a) Fermentación: La miel no deberá tener indicios de fermentación ni será efervescente.

Acidez libre máximo 50 miliequivalentes por kilogramo.

b) Grado de frescura: determinado después del tratamiento.

Actividad diastásica: Como mínimo el 8 de la escala de Gothe. Las mieles con bajo contenido enzimático deberán tener como mínimo una actividad diastásica correspondiente al 3 de la escala de Gothe, siempre que el contenido de hidroximetilfurfural no exceda a 15 mg/kg.

El contenido de Hidroximetilfurfural: máximo 60 mg/kg.

Las normas internacionales de la miel (Bogdanov et al., 1999; Anónimo, 2001a) permiten una denominación específica del origen botánico o vegetal (mieles uniflorales) pero no específica las características de los distintos tipos de mieles. De hecho, la necesidad de desarrollo de métodos analíticos armonizados para verificar el cumplimiento de las especificaciones de calidad de los diferentes tipos de mieles

#### **1.2.10.2.- Normativa Boliviana**

También es importante nombrar la Norma Boliviana 38023 Miel-Requisitos (2006), la que detalla requisitos organolépticos, requisitos fisicoquímicos y microbiológicos. Además de incluir métodos de muestreo (NB 38024), métodos de ensayo (NB 38025 al NB 35035), y normas específicas de etiquetado, envase y embalaje.

### **1.3. El Propóleos**

A los griegos les debemos su nombre: pro, significa "delante de", y polis, que quiere decir "ciudad". Esto se traduce como "defensas antes de la ciudad" o "defensor de la ciudad". Esto debido a que las abejas elaboran el propóleos mezclando sustancias activamente secretadas o exudadas por heridas de ciertos vegetales, con ceras, sus secreciones salivares y otras sustancias en proporciones variables. Lo utilizan para barnizar el interior de la colmena incluyendo los panales, con fines desinfectantes, para cerrar grietas, reducir vías de accesos y para consolidar los componentes estructurales. También lo emplean para recubrir cadáveres de animales que se pueden haber introducido en la colmena (escarabajos, roedores, lagartijas, etc.) y son muertos por las abejas quedando embalsamados evitando su descomposición. Esta propiedad ya era conocida por los egipcios y los sacerdotes lo utilizaban para embalsamar muertos (Enrique L. Bedascarrasbure y Luis M. Maldonado 2006).

#### **1.3.1. Recolección y elaboración por parte de las abejas**

Como ya se mencionó, las resinas que dan origen al propóleos, son sustancias activamente secretadas o exudadas por heridas de ciertos vegetales. Si bien el comportamiento de forrajeo de estas resinas ha sido escasamente estudiado, Manrique y Egea (2002) citado en el libro de Bedascarrasbure (2006) reportan que solo pocas abejas colectan propóleos. Según Santos y col. (1993), también citados en el libro de Bedascarrasbure (2006) mencionan que las colonias africanizadas en ambientes tropicales presentan un mayor número de forrajeras de resinas entre las 10 y las 14 hr. Y la recolección cesa por debajo de los 21°C o por encima de los 28°C. Sin lugar a dudas la temperatura ambiente juega un papel muy importante desde el punto de vista de la maleabilidad de las resinas facilitando la actividad de forrajeo por parte de las abejas.

Las pecoreadoras de *Apis mellífera* recolectan resinas utilizando las mandíbulas y el primer par de patas, durante este proceso participa el ácido 10-hidroxicenoico secretado por las glándulas mandibulares (Bedascarrasbure y col 2006). De ese modo



extraen las resinas formando pequeños gránulos que son trasladados a los sacos corbiculares para ser transportados a la colonia.

### **1.3.1. La elaboración del Propóleos por parte de las abejas**

En colmenas de observación se ha visto que las pecoreadoras, al llegar a la colonia se dirigen al lugar donde el propóleos es utilizado y suelen esperar pacientemente entre una y siete horas hasta ser liberadas de su carga; durante este tiempo no tratan de extraer las resinas de sus patas por ellas mismas, pero sí ayudan a las abejas encargadas de realizar esa tarea (Bedascarrasbure y col. 2006).

La procedencia del propóleos se discute desde hace más de 2300 años, cuando Aristóteles filosofaba sobre el tema. Originalmente se le asignaba un origen “externo” donde la calidad del producto resultante estaba exclusivamente influenciada por la calidad de las resinas recolectadas (Rosh, Evenius y Berlopech, citados por Del Cueto (Bedascarrasbure y col. 2006).

Pero posteriormente se vió que en los propóleos aparecían algunos componentes no presentes en las resinas y comenzó a hablarse de un “origen interno”. Esta teoría fue enunciada originalmente por Kustenmacher en 1907 (Citado por Bedascarrasbure y col. 2006) quien hacía referencia al bálsamo originado en la digestión e hidrólisis láctica de los granos de polen; si bien explicaría la presencia de granos de polen (o sus exinas), esta teoría fue luego descartada en función de la composición química del propóleos, que nada tiene que ver con los productos de la digestión del polen. Además existen una cantidad de aspectos relacionados a la anatomía y fisiología de *Apis mellifera* que permiten descartar la tesis de origen interno.

Si bien está claro que el propóleos tal como es conocido desde antes de Cristo tiene un importante aporte de sustancias elaboradas por las abejas y que quizás sean abejas adultas las que participan en su elaboración; su origen probablemente se explique por una posición intermedia entre estas dos teorías. Pero es evidente que el origen botánico tiene una incidencia decisiva sobre el producto resultante, constituyéndose en la principal fuente de variabilidad entre diferentes muestras de propóleos.

### **1.3.3. Cosecha del propóleos**

Para esto, se seleccionan colonias fuertes y que se muestren propolizadoras. Este es un carácter genético. Conviene, por ejemplo, colocar las colmenas en zonas de reforestación, con las piqueras orientadas hacia el viento.

**1.** Saque la entre tapa (si la usa) y coloque debajo del techo una rejilla plástica o alambre de malla milimétrica de 2 a 3 mm. o inclusive tela mosquitera. Se prefiere recomendar material plástico, si es posible, para evitar contaminaciones.

**2.** Revise cada 15 días el propóleos depositado. Se puede retirar cuando esté tapado al 80%.

**3.** Este sistema conviene más que el simple raspado, donde se cosecha menos y con más residuos. La rejilla se lleva a congelar 1-2 días. Esto hace que se endurezca y se desprende fácilmente. Se sacude sobre una superficie limpia y lisa. La producción de propóleos es muy variable, pero pueden caer unos 200-300 gramos. En esta etapa, al propóleos se lo puede trocear en pequeños pedazos, del tamaño de un garbanzo más o menos.

**4.** Calentamos agua y se escaldan estos trozos, sumiéndolo para que se separe parte de las ceras y otras sustancias. Se cuele y se deja secar bien. Se vuelve a congelar.

**5.** Después se procede a trocearlo y machacarlo en un mortero, hasta que quede reducido a polvo. En este momento también se separan las partículas no deseadas, como pueden ser tierra, astillas de las colmenas y partes de abejas (alas, patas, aguijones). Puede ser por tamizado.

El producto así conseguido puede ser guardado en papel de aluminio, o envasado en frascos opacos (o tapados con papel de diario) y conservado en un sitio fresco y seco, o inclusive en congeladora.

El propóleos se comercializa mayormente en solución alcohólica (tintura), o agregado como extracto blando en caramelos, cremas, champú, talcos, jabones, etc. (Esteban G. Dussart e Yves Bartolomé Octubre de 2007)

### 1.3.3.1. Colector de propóleos llamado Pirassununga

Existe otra técnica colectora de propóleos en Brasil, llamada Pirassununga, que consiste en estimular la producción de propóleos a través de unas aberturas laterales en las paredes de las colmenas. De este modo, al parecer, se puede aumentar la productividad hasta 600 g al mes. Se trata una invención brasileña del Sr. Carlos Eduardo Conceição. Consiste en una suerte de estuche acoplado a paredes laterales móviles en las cámaras de cría y alzas melarias de colmenas adaptadas a la recolección de propóleos. Esta adaptación no impide de ninguna manera buenas cosechas de miel.

**Figura 1-1 El estuche adaptado, sobre cámara de cría y alza melaria, con su abertura inicial.**



Con el objetivo de forzar la producción de propóleos, se abren los laterales móviles, dejando una rendija de unos 2 cm, dependiendo de la estación, de las condiciones y de la capacidad propolizadora de las colmenas. A medida que esta rendija se va colmando de propóleos, se la abre más (aprox. 2 cm de cada lado cada 4 a 5 días).

En el plazo de un mes, dependiendo de la colmena (su fuerza, su capacidad propolizadora que es un factor genético dependiendo del tipo de reina) y de forraje apícola (factores estacionales y climáticos, vegetación local etc.) se consigue una barra totalmente propolizada de unos 100 gramos. En un caso ideal, con una colmena bien fuerte, 3 alzas melarias bien pobladas con unas 80.0000 abejas, se puede llegar a

rendimientos mensuales de 600 gramos. (Esteban G. Dussart e Yves Bartolomé Octubre de 2007)

**Figura 1-2 Cortina de propóleos formada.**



**Figura 1-3 Un estuche completo con propóleos**



En el plazo de un mes, dependiendo de la colmena (su fuerza, su capacidad propolizadora que es un factor genético dependiendo del tipo de reina) y de forraje apícola (factores estacionales y climáticos, vegetación local etc.) se consigue una barra totalmente propolizada de unos 100 gramos. En un caso ideal, con una colmena bien fuerte, 3 alzas melarias bien pobladas con unas 80.0000 abejas, se puede llegar a rendimientos mensuales de 600 gramos. (Esteban G. Dussart e Yves Bartolomé Octubre de 2007)

### **1.3.1.-Composición del propóleos**

Los elementos (más de 200 sustancias) siempre son los mismos, pero puede haber una gran variación en su cantidad relativa, según la flora del lugar y la estación del

año. Algunos lugares pueden ser más propicios que otros (por ejemplo montañas con bosque resinosos).

La composición del propóleo se detalla en la cuadro I.2. Estos parámetros están influenciados por varios factores tales como, el medio ambiente, la época del año, el método de recolección, ubicación de la colmena, y el tipo de abejas.

**Cuadro I-2 Composición del propóleo muertos (Enrique L. Bedascarrasbure y Luis M. Maldonado 2006).**

<b>Cera</b>	<b>20-30%</b>
<b>Resinas y bálsamos aromáticos</b>	<b>40-50%</b>
<b>Aceites esenciales</b>	<b>5-10%</b>
<b>Polen</b>	<b>4-5%</b>
<b>Mezcla mecánica</b>	<b>10-15%</b>

La fracción denominada “Ceras” (cera de abejas) es insoluble en agua y alcohol en frío, pero muy soluble en n-hexano o éter de petróleo y normalmente es considerada como inerte. Por su parte, las “Resinas” son altamente solubles en etanol, metanol, cloroformo y prácticamente insolubles en agua, dependiendo del origen botánico del propóleo. De acuerdo a numerosas investigaciones realizadas en todo el mundo esta fracción es de gran interés por haberse encontrado en ella compuestos del tipo fenólico, con intensa actividad biológica que en muchos casos explican las propiedades del propóleo. Se pueden encontrar además otros compuestos con actividad biológica como aceites esenciales (compuestos volátiles), los cuales pueden degradar (principalmente por oxidación) ya sea por acción del tiempo o de las temperaturas altas. Debido a estas características, se ha puesto como indicador de “frescura” de los propóleos (4).

Las “Impurezas” (o impurezas mecánicas) están constituidas por restos vegetales y minerales adicionados por las abejas con el objeto de otorgarle la consistencia necesaria de acuerdo a la función que tendrá en la colmena.

Para ilustrar la variación respecto del origen geográfico podemos considerar resultados analíticos de muestras de propóleos en bruto correspondientes a diferentes regiones de la república Argentina, según Bedascarrasbure, Maldonado, Morales y Alvares (Julio 2006):

**Cuadro I-3 Datos experimentales de composiciones de distintos propóleos de la república de Argentina según muertos (Enrique L. Bedascarrasbure y Luis M. Maldonado 2006).**

REGIÓN	PROMEDIO (%)		
	CERAS	RESINAS	IMP.MEC.
NOA	45,17	35,48	14,61
NEA	57,83	19,29	17,06
CUYO	24,6	65,56	5,28
CENTRO	64,64	19,62	12,14
Bs. As.	24,54	64,96	6,06
PATAGONIA	69,1	21,13	4,95

Las fracciones que tienen propiedades terapéuticas son las resinas, bálsamos y aceites esenciales. Contienen antibióticos (uno de los antibióticos más poderosos y conocidos del propóleos es el ácido-10-hidroxi-2-decenoico, que también es característico de la jalea real), antimicóticos y bactericidas poderosos, moléculas con efectos estimulantes del sistema inmunológico, anestésicos, cicatrizantes y en algunos casos antitumorales comprobados. Estas propiedades derivan de que las plantas mismas las usan para defenderse de los gérmenes y para organizar el desarrollo armónico de su crecimiento (Esteban G. Dussart e Yves Bartolomé (Octubre de 2007)

Junto a esto, se han identificado más de 160 compuestos, de los cuales un 50% son compuestos fenólicos, a los cuales se les atribuye acción farmacológica. Los principales fenoles identificados son:

1. Flavonoides (flavonas, isoflavonas, flavononas).
2. Ácidos aromáticos y sus ésteres (ácido cafeico, cinámico y otros).
3. Aldehídos aromáticos (vainillina e isovainillina).

4. Cumarinas.
5. Triglicéridos fenólicos.

Los flavonoides o bioflavonoides son pigmentos (sustancias colorantes) naturales presentes en los vegetales. Han adquirido a últimas fechas notoriedad pública a raíz de su actividad biológica con propiedades diversas como antioxidantes (protegen las plantas que los producen de rayos UV), antimicrobianos, anticancerígenos, antimutagénicos, etc. La proporción de flavonoides es un indicador frecuente de la calidad de un propóleo.

Existe otro grupo de compuestos y elementos minerales que se encuentran en cantidades casi inapreciables, y que son muy importantes en la actividad biológica del propóleo y en el metabolismo celular. En este grupo destacan la pro vitamina A y algunas vitaminas del complejo B, en especial la vitamina B3 o nicotinamida; además de lactonas, polisacáridos, aminoácidos y otras sustancias aún no identificadas.

El propóleo presenta una consistencia variable dependiendo de su origen y de la temperatura. Hasta 15°C es duro y se torna más blando y moldeable a medida que aumenta la temperatura. Su punto de fusión varía entre 60 a 70°C, llegando en algunos casos hasta 100°C

Generalmente su olor es agradable y dulce. En algunos casos predomina el olor vegetal, mientras que en otros es más fuerte el olor a cera. Eso sí, cuando se quema sale una fragancia de resinas aromáticas, y su sabor más bien amargo.

### **1.3.2. Análisis de calidad de propóleos y Parámetros de normas**

Para ampliar más los conceptos relacionados de estos parámetros revisamos los pormenores de cada normativa.

Los países de Europa oriental y la ex Unión Soviética fueron los primeros en establecer estándares de calidad para el propóleo y sus extractos. Así, es posible citar los estándares detallados en el cuadro I-4, propuestos por la Norma regional Rusa RSFSR (Russian Regional Standards, 1977).

**Cuadro I-4 Análisis de calidad para el propóleos bruto y extractos de propóleos**  
**cuadro resumen de la publicación de Enrique Bedascarrasbure y Luis M.**  
**Maldonado “Caracterización y normalización de propóleos argentinos”.**

		PARÁMETROS			
PARÁMETRO DE ANÁLISIS		NORMA RUSA	NORMA JAPONESA	NORMA BRASILEIRA	NORMA ARGENTINA
ANÁLISIS DE PROPÓLEOS BRUTO	Humedad		MAX. 10%	MAX. 8%	MAX. 10%
	Cenizas		MAX. 5%	MAX. 5%	MAX. 5%
	Determinación de ceras	MAX.30%	MAX.40%	MAX.25%	MAX.35%
	Determinación de resinas		MÍN. 30%		MÍN. 35%
	Determinación de impurezas mecánicas	MAX. 20%	MAX. 30%	MAX. 40%	MAX. 25%
	Determinación de compuestos fenólicos totales	MÍN. 30%	MÍN. 5%	MÍN. 5%	MÍN. 5%
	Determinación de flavonoides totales	Positiva	MÍN. 0,5%	MÍN. 0,5%	MÍN.1%
	Determinación del índice de oxidación	MÁX. 22 seg.	MÁX. 22 seg.	MÁX. 22 seg.	MÁX. 22 seg.
	Determinación del espectrograma de absorción en el UV.		Máximo de absorción entre 270 y 315 nm.	Máximo de absorción entre 200 y 400 nm.	Máximo de absorción entre 270 y 315 nm.
	Determinación de plomo en propóleos en bruto.				2 mg/kg
	Determinación de arsénico en propóleos en bruto.				1 mg/kg
ANÁLISIS DE EXTRACTOS DE PROPÓLEOS	Determinación de extracto seco			MIN. 11%	MIN. 10%
	Determinación de ceras		MAX.40%	MÁX. 2%	MÁX. 2%
	Determinación de compuestos fenólicos totales		MÍN. 5%	MÍN. 0.25%	MÍN. 0.25%
	Determinación de flavonoides totales		MÍN. 0,5%	MÍN. 0.25%	MÍN. 0.25%
	Determinación del índice de oxidación		MÁX. 22 seg.	MÁX. 22 seg.	MÁX. 22 seg.
	Determinación del espectrograma de absorción en el UV.		Máximo de absorción entre 270 y 315 nm.	Máximo de absorción entre 200 y 400 nm.	Máximo de absorción entre 270 y 315 nm.



En la década de los 90, Japón se convirtió en el más importante consumidor de propóleos como suplemento dietario después del boom originado por las propiedades difundidas en la 50° Reunión anual de la Japanese Cancer Association (1991). A partir de este hecho, la Japanese Propolis Conference (asociación de 250 compañías que producen o venden productos con propóleos) estableció estándares para extractos etanólicos y otros productos a base de propóleos.

El ministerio de agricultura de Brasil, que es uno de los principales exportadores de propóleos, y proveedor del mercado japonés, estableció en 2001 un conjunto de especificaciones para el propóleos en bruto y para los extractos, los que se resumen en el cuadro anterior.

En la Argentina, la comisión Nacional de Alimentos (CONAL) propuso incorporar el propóleos al código (marzo 2004), pero aún la resolución no fue aprobada por el ministerio de Salud.

Las especificaciones propuestas por la CONAL para ser introducidas en el código Alimentario Argentino, fueron en resumen las detalladas en el cuadro anterior.

#### **1.3.4. Procesamiento de Propóleos**

##### **1.3.4.1. Preparación de la tintura madre (o solución alcohólica)**

Hay que colocar el propóleos que hemos limpiado y trozado en alcohol etílico absoluto de 96 grados. Puede ser de menor graduación (hasta 70 °), pero así se disolverá más lentamente. El tiempo de disolución es de unos 10 días. Agitar unos 30 minutos todos los días.

Después de este tiempo, se filtra la solución y se envasa el producto llamado tintura porque es oscuro y cargado de pigmentos.

El alcohol debe ser de uso interno. El alcohol para fricciones que se vende en muchas farmacias tiene aditivos, acetona por ejemplo, que son tóxicas, no se pueden ingerir. Y obviamente no confundir alcohol etílico (el que usamos) con alcohol metílico (que puede matar o volver ciego).

Hay quien usa otro producto, el propilenglicol (frecuente en los jarabes para la tos) en lugar del alcohol etílico, pero esta sustancia es más difícil de conseguir y puede provocar algún tipo de alergia.

En 1992, una empresa argentina (Laboratorios Huilen) de productos naturales que empezaba a tener un éxito masivo con el propóleo sufrió un atentado organizado al parecer por laboratorios farmacéuticos mayores: le contaminaron algunas partidas de tintura de propóleo con dietilenglicol (componente de los líquidos anticongelantes usados en los automóviles en países fríos) un producto parecido al propilenglicol, pero que es altamente tóxico.

Las tinturas se deben conservar en un lugar fresco, al amparo de la luz (frascos opacos). Si se colocan en un lugar muy frío, el propóleo puede volver a precipitar. Conclusión: no congelarlo. Las proporciones a usar son muy variables. Pero normalmente las tinturas de buena calidad oscilan entre un 10 y un 20%. También se hacen tinturas madres al 50%, a fin de preparar la otra forma farmacéutica que es el extracto blando. (Esteban G. Dussart e Yves Bartolomé Octubre de 2007)

Otros conceptos con los que nos debemos familiarizar son los referidos a las técnicas de extracción, de los cuales varios ya fueron nombrados con anterioridad y en las siguientes líneas se detalla sus significados para su mejor comprensión:

### **1.3.5. Técnicas de extracción sólido – líquido**

Entre las técnicas para la extracción a partir de sólidos a través de solventes líquidos, tenemos:

#### **1.3.5.1. Extracción Discontinua**

La cual puede clasificarse en función a la temperatura a la que se lleve a cabo:

- **A temperatura ambiente.**- Por ejemplo, la maceración, la cual es la apropiada para nuestro caso ya que al ser discontinua presenta menor grado de dificultad, y no precisa el uso de instrumental costoso para la extracción; además, al ser a temperatura ambiente protege los principios activos del propóleo que son termosensibles.

**- A temperatura superior al ambiente.-**

- Digestión (10°-60°C)
- Infusión (100°C) (poniendo el agua encima)
- Decosión (100°C) (hervir en el agua)

**1.3.5.2. Extracción Continua:**

- A temperatura ambiente:

- Percolación (= cernir) (presión normal)
- Diacolación (presión)
- Evacolación (vacío)

- A temperatura cercana a la ebullición:

- Soxhlet

**1.3.6. Clasificación de los extractos**

Los extractos en función de su concentración de extracción pueden tener distintas denominaciones, las mismas que se detallan a continuación:

- **Tinturas (10-20%).**- Utilizan como solvente soluciones hidroalcohólicas, siendo el alcohol preservante y/o mejorador de la extracción, y técnicamente su concentración debe estar entre 10 y 20%.

- **Extractos fluidos (1 g/ 1 ml).**- Cada ml del extracto fluido tiene 1 g de droga; es un extracto más concentrado.

- **Extractos blandos (4-6 g/ ml).**- Son como pomadas, más concentrados que un extracto fluido.

- **Extracto seco.**-Son aquellos que posterior a la extracción el solvente líquido es extraído por algún método convencional, quedando solo el extracto seco en una concentración próxima al 100%, por ejemplo: Café instantáneo, leche en polvo.

Además es muy importante que para alcanzar una buena extracción se deben tener en cuenta los siguientes factores que influyen la extracción

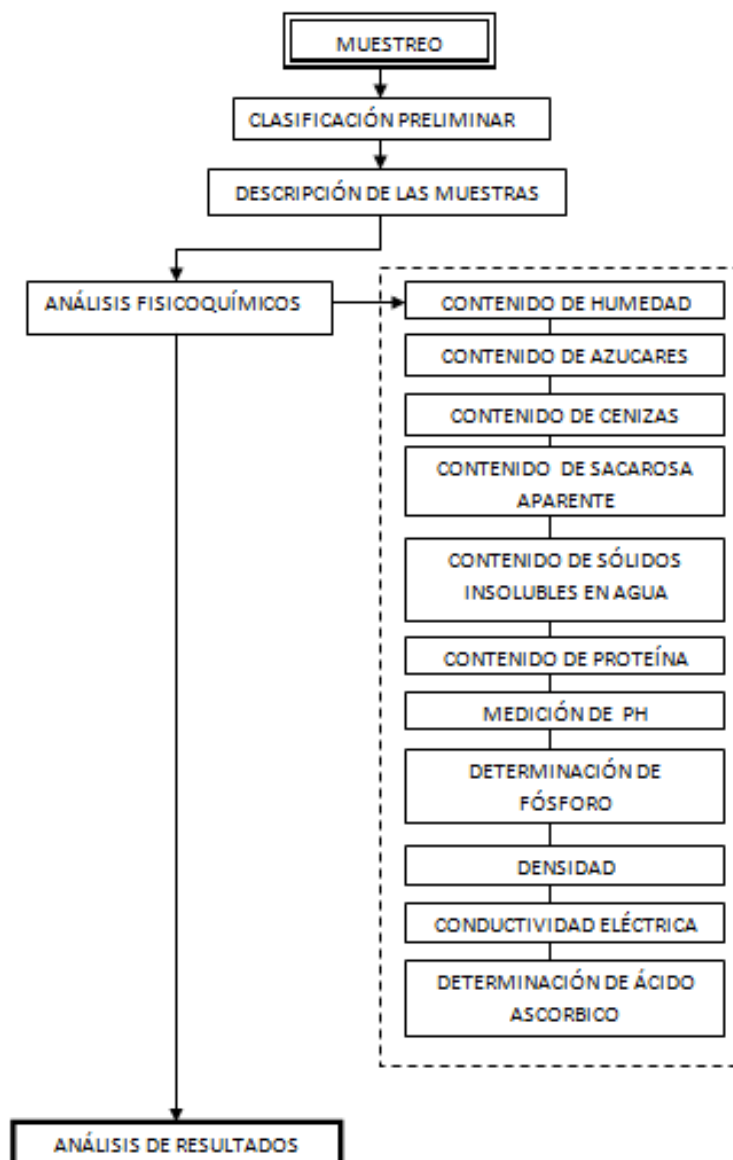
1. Grado de división de la droga
2. Viscosidad del medio
3. Temperatura
4. Agitación

**CAPÍTULO II**  
**PARTE EXPERIMENTAL**

## 2.1 Metodología del proyecto

La figura 2-1 muestra el diagrama de bloques del análisis fisicoquímico de la miel de abejas de la región

**Figura 2** Diagrama de bloques para la caracterización fisicoquímica de la miel de abejas.



**Fuente:** Elaboración propia

## 2.2. Muestreo y análisis organoléptico

El muestreo se realizó en los lugares de producción, se tomaron 5 muestras de miel de flores las que fueron cosechadas en el mes de diciembre, siendo las muestras producidas en primavera, y 5 de miel de mielada las que fueron cosechadas en el mes de junio, siendo las muestras producidas en otoño; además, fueron muestreadas de distintas zonas productoras, con un peso aproximado de 300 gr. por muestra.

La toma de muestras la realizaron los propios productores siguiendo los métodos habituales, empleando prensas de madera y centrífugas de acero. Los cuadros II-1 a II-10 muestran la procedencia, fechas de muestreo y análisis de las mieles y en la tabla II-1 un resumen de todos estos datos.

El análisis organoléptico fue realizado en forma personal, para describir las muestras más detalladamente, ya que estas características pueden ser importantes al momento de tener los resultados físico-químicos.

**Figura 2-1** Muestras de miel de flores



Cuadro II-1 Muestra 1; Miel de flores-Salinas afuera 2

MUESTRA Nº 1	
Productor.-	Gloria Magarzo
Lugar.-	Salinas afuera 2
Fecha de cosecha.-	23/12/08
Fecha de muestreo.-	29/12/08
Fecha de análisis.-	28/01/09 al 09/02/09



A glass jar of honey with a gold lid, labeled 'SALINAS 2'. The honey is dark brown and appears thick. The label is white with black text.

**Descripción.-** La miel es la más oscura café rojizo oscuro, la segunda que presentaba menos fluidez.

Cuadro II-2 Muestra 2; Miel de flores-Salinas 1

MUESTRA Nº 2	
Productor.-	Huver Cuevas
Lugar.-	Salinas 1
Fecha de cosecha.-	22/12/08
Fecha de muestreo.-	29/12/08
Fecha de análisis.-	28/01/09 al 09/02/09




A glass jar of honey with a gold lid, labeled 'SALINAS 1'. The honey is a lighter, caramel color and appears more fluid. The label is white with black text.

**Descripción.-** Color caramelo, la más fluida de todas, presenta cristales en la base del frasco, Impurezas Mecánicas en la parte superior, aroma muy fuerte, sabor delicado, textura suave.



**Cuadro II-3** Muestra 3; Miel de flores-Motobí

<b>MUESTRA Nº 3</b>	
<b>Productor.-</b>	Amanda Romero
<b>Lugar.-</b>	Motobí -Tariquía
<b>Fecha de cosecha.-</b>	16/12/08
<b>Fecha de muestreo.-</b>	29/12/08
<b>Fecha de análisis.-</b>	28/01/09 al 09/02/09
<b>Descripción.-</b> Color caramelo rojizo, muy transparente fluidez regular.	


**Cuadro II-4** Muestra 4; Miel de flores-Chiquiacá

<b>MUESTRA Nº 4</b>	
<b>Productor.-</b>	Ciprián Mendoza
<b>Lugar.-</b>	Chiquiacá
<b>Fecha de cosecha.-</b>	17/12/08
<b>Fecha de muestreo.-</b>	29/12/08
<b>Fecha de análisis.-</b>	28/01/09 al 09/02/09
<b>Descripción.-</b> Color amarillo oscuro poca fluidez, pero no azucarada, sabor suave, textura suave.	



Cuadro II-5 Muestra 5; Miel de flores-San José

MUESTRA Nº 5	
Productor.-	Renán Armella
Lugar.-	San José - Tariquía
Fecha de cosecha.-	01/12/08
Fecha de muestreo.-	29/12/08
Fecha de análisis.-	28/01/09 al 09/02/09



**Descripción.**-Es la miel más amarilla, un amarillo limón, se azucaró muy rápidamente, y fue la única que se azucaró, sabor dulce delicado (Azúcar).

Figura 2-2 Muestras correspondientes al segundo muestreo.



**Cuadro II-6** Muestra 6; Miel de Mielada-Chiquiacá

MUESTRA Nº 6	
<b>Productor.-</b>	Adán Ramos
<b>Lugar.-</b>	Chiquiacá
<b>Fecha de cosecha.-</b>	10/06/11
<b>Fecha de muestreo.-</b>	10/06/11
<b>Fecha de análisis.-</b>	22/06/11 al 06/07/11



**Descripción.-** Amarilla jaspeada con blanco, sabor fuerte, textura azucarada, con cristales grandes.

**Cuadro II-7** Muestra 7; Miel de Mielada-Pampa Grande

MUESTRA Nº 7	
<b>Productor.-</b>	Linder Sivila
<b>Lugar.-</b>	Pampa Grande
<b>Fecha de cosecha.-</b>	10/06/11
<b>Fecha de muestreo.-</b>	10/06/11
<b>Fecha de análisis.-</b>	22/06/11 al 06/07/11



**Descripción.-** Amarillo oscuro homogéneo, sabor fuerte, textura suave uniforme.

**Cuadro II-8** Muestra 8; Miel de Mielada-Salinas

<b>MUESTRA Nº 8</b>	
<b>Productor.-</b>	Ángel Ortega
<b>Lugar.-</b>	Salinas
<b>Fecha de cosecha.-</b>	10/06/11
<b>Fecha de muestreo.-</b>	10/06/11
<b>Fecha de análisis.-</b>	22/06/11 al 06/07/11
<b>Descripción.-</b> Fluida muy densa, color ámbar anaranjado, textura suave.	

**Cuadro II-9** Muestra 9; Miel de Mielada-Motoví

<b>MUESTRA Nº 9</b>	
<b>Productor.-</b>	Pedro Romero
<b>Lugar.-</b>	Motoví
<b>Fecha de cosecha.-</b>	10/06/11
<b>Fecha de muestreo.-</b>	10/06/11
<b>Fecha de análisis.-</b>	22/06/11 al 06/07/11
<b>Descripción.-</b> Amarillablanquecina homogénea, sabor suave, textura azucarada con cristales.	



**Cuadro II-10** Muestra 10; Miel de Mielada-Motoví

<b>MUESTRA Nº 10</b>	
<b>Productor.-</b>	Gabriel Jaramillo
<b>Lugar.-</b>	Naranjo Agrio
<b>Fecha de cosecha.-</b>	10/06/11
<b>Fecha de muestreo.-</b>	10/06/11
<b>Fecha de análisis.-</b>	22/06/11 al 06/07/11
	
<b>Descripción.-</b> Amarilla limón, transparente, sabor a naranja, textura y color uniformes.	

### 2.2.1. Descripción de muestras

Posterior a su clasificación, se procedió a realizar una descripción de las principales características organolépticas de las muestras de miel tales como color, sabor, aroma, apariencia y consistencia; dicha descripción se puede apreciar en la tabla II-1, que muestra los resultados obtenidos.

### 2.2.2. Análisis de características físico-químicas

La totalidad de los análisis de la miel de abejas se realizaron en el Centro de Análisis de Investigación y Desarrollo (CEANID), con métodos validados que desarrolla el mismo.

- **Contenido de humedad** Los análisis se realizará en el CEANID mediante la técnica de refractometría siguiendo la norma Boliviana 383-80.

- **Contenido De Azúcares** Tanto reductores como totales, los análisis se realizarán en el CEANID mediante la técnica de Volumétrica siguiendo la norma AOAC 923.09.

- **Contenido de cenizas** Los análisis se realizarán en el CEANID mediante la técnica de Gravimetría siguiendo la norma Boliviana 075-74.

-**Contenido de sacarosa aparente** Mediante cálculo diferencia entre azúcares reductores y no reductores.

-**Contenido de sólidos insolubles en agua** Los análisis se realizarán en el CEANID mediante la técnica de Gravimetría siguiendo la norma Boliviana 456-81

-**Contenido de proteína** Los análisis se realizarán en el CEANID mediante la técnica de volumetría siguiendo la norma Boliviana 466-81.

-**Medición del Ph** Los análisis se realizarán en el CEANID mediante la técnica de potenciometría siguiendo la norma Boliviana 785-97.

-**Determinación de Fósforo** Los análisis se realizarán en el CEANID mediante la técnica de volumetría siguiendo la norma Boliviana 554-91.

-**Densidad.-** Los análisis se realizarán en el CEANID mediante la técnica de gravimetría siguiendo la norma Boliviana 230-99.

-**Conductividad Eléctrica** Los análisis se realizarán en el CEANID mediante la técnica de potenciometría siguiendo la norma SM 2510-B.

-**Determinación de Ácido Ascórbico** Los análisis se realizaran en el CEANID mediante la técnica de volumetría siguiendo el método de Tillman.

Los resultados entregados por el CEANID se adjuntan en el Anexo 3 Resultados, del presente documento.

**2.2.3. Análisis de Resultados** Una vez obtenidos los resultados de los distintos análisis, éstos son tabulados y contrastados contra los límites permisibles expuestos en la normativa, haciendo hincapié y un análisis más detallado en los parámetros que resultasen desviados, para determinar con ayuda de la literatura descrita en el marco

teórico del presente proyecto, las razones de las desviaciones, además cómo inciden estas desviaciones en la calidad de la miel, caracterizando de esta forma las mieles de

Tabla II-1 Descripción de características organolépticas

#	MUESTRA	SEGÚN SU ORIGEN	SEGÚN PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN	SEGÚN SU PRESENTACIÓN	COLOR		SABOR Y AROMA	APARIENCIA	OBSERVACIONES
1	SALINAS FUERA	Mielada	Centrifugada	Líquida	Ámbar oscuro	Uniforme opaco	Con sabores y aromas característicos	Sin cuerpos extraños	Muy densa
2	SALINAS	Mielada	Centrifugada	Líquida	Ámbar	Uniforme traslúcido	Con sabores y aromas característicos	Con cuerpos extraños	Partículas extrañas sobrenadantes, cristales al fondo del envase, textura suave, muy fluida.
3	CHIQUIACA	Mielada	Centrifugada	Líquida	Ámbar	Uniforme transparente	Con sabores y aromas característicos	Sin cuerpos extraños	No muy fluida.
4	MOTOVÍ	Mielada	Centrifugada	Líquida	Amarillo oscuro	Uniforme translúcido	Con sabores y aromas característicos	Sin cuerpos extraños	Textura suave, poco fluida.
5	SAN JOSÉ	Mielada	Centrifugada	Cristalizada o Granulada	Amarillo claro	Uniforme opaco	Con sabores y aromas característicos	Sin cuerpos extraños	-
6	CHIQUIACÁ	Flores	Centrifugada	Cristalizada o Granulada	Amarillo claro	Uniforme opaco	Con sabores y aromas característicos	Sin cuerpos extraños	-
7	PAMPA GRANDE	Flores	Prensada	Líquida	Amarillo oscuro	Uniforme opaco	Con sabores y aromas característicos	Sin cuerpos extraños	Sabor fuerte, textura suave y uniforme.
8	SALINAS	Flores	Prensada	Líquida	Ámbar	Uniforme translúcido	Con sabores y aromas característicos	Sin cuerpos extraños	Textura suave.
9	MOTOVÍ	Flores	Centrifugada	Cristalizada o Granulada	Amarillo claro	Uniforme opaco	Con sabores y aromas característicos	Sin cuerpos extraños	Sabor suave, textura cristalizada.
10	NARANJO AGRIO	Flores	Prensada	Líquida	Amarillo claro	Uniforme traslúcido	Con sabores y aromas característicos	Sin cuerpos extraños	Sabor ácido parecido al jugo de naranja.

Fuente: Elaboración propia, análisis personal.

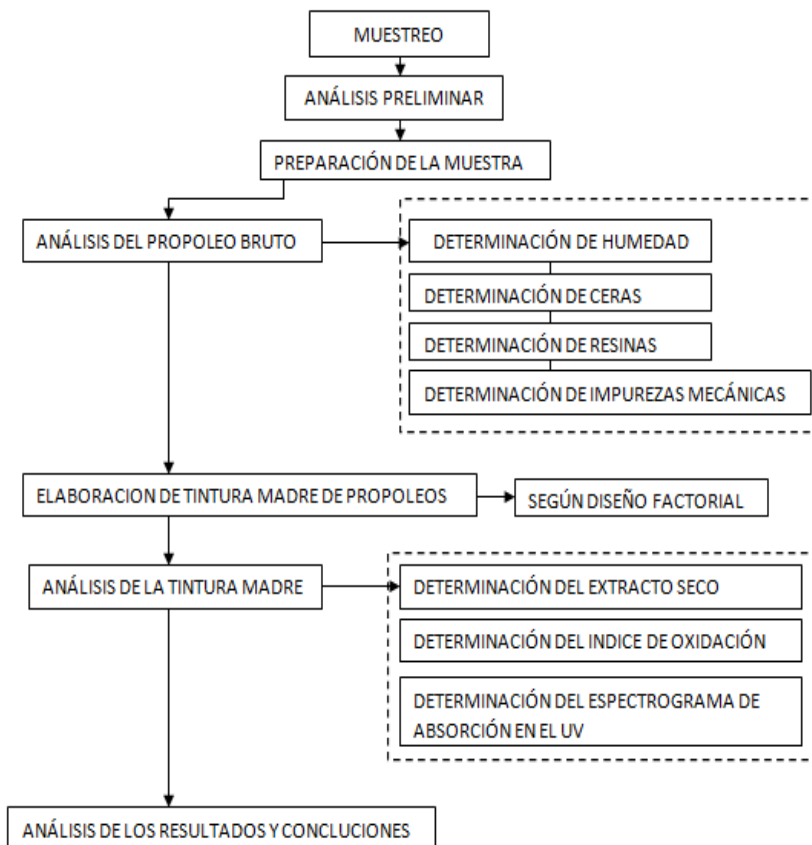


la Reserva de flora y fauna de Tariquía este análisis se lo detalla en el capítulo III Resultados y discusiones.

### 2.3. Metodología de análisis de Propóleos y elaboración de tintura madre

Para el estudio de propóleos se adoptará la siguiente metodología:

**Figura2-3** Diagrama de bloques para obtención de tintura madre de propóleos.



**Fuente:** Elaboración propia

**2.3.1. Recolección de muestras de propóleos en bruto:** El muestreo se lo realizará en los lugares de producción en número de 7 de distintas zonas productoras y siendo las mismas compuestas, es decir, mezclas de propóleos de una misma región y de aproximadamente 500 gr por muestra.

Una vez colectados deben almacenarse en frascos de vidrio y etiquetarlos con el nombre de la región; No se embala más de un kilogramo para facilitar su análisis

posterior. La temperatura de conservación fue de 15°C, y no más de 20°C. Se emplearon propóleos recién cosechados, pues su actividad biológica decrece con el tiempo. La calidad de propóleos esta básicamente determinada por la cantidad de principios activos que puedan extraerse de ellos. En ningún caso se colectó el propóleos a partir de chapas o superficies metálicas, porque el carácter ácido del propóleos puede inducir concentraciones indeseables.

Los propóleos, fueron colectados en lugares preferentemente limpios, manipulándolos con la máxima higiene.

### 2.3.2. Análisis preliminar

Una vez obtenido el propóleos en bruto, se revisó para eliminar aquellas partículas no deseadas, como son polvo, astillas de las colmenas o partes de abejas (trozos de alas, patas, aguijones, etc).

Después se llevó adelante un análisis preliminar de todas las muestras de propóleos, los mismos se detallan en los siguientes cuadros; se tomó en cuenta el color, olor, sabor, consistencia, aspecto e impurezas visibles:

**Cuadro II-11** Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de Salinas.

MUESTRA 1	SALINAS
	
Color	Marron Rojizo
Olor	Resinoso suave
Sabor	Picante
Consistencia	Dura maleable
Aspecto	Trozos Irregulares, tamaño variable
Impurezas Visibles	Pequeños trozos de astillas.

**Cuadro II-12** Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de Chiquiacá

MUESTRA 2	CHIQUIACA
	
Color	Marron Rojizo
Olor	Resinoso.
Sabor	Picante
Consistencia	Blanda
Aspecto	Trozos pequeños, irregulares con brillo
Impurezas Visibles	Virutas de madera, partes de abejas.

**Cuadro II-13** Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de La Planchada.

MUESTRA 3	LA PLANCHADA
	
Color	Marron oscuro, con verde.
Olor	Resinoso Aromático.
Sabor	Picante.
Consistencia	Dura maleable
Aspecto	Tozos grandes irregulares
Impurezas Visibles	Pequeñas virutas de madera.

**Cuadro II-14** Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de Motoví.

MUESTRA 4	MOTOVÍ
	
Color	Negro con verde
Olor	resinoso Aromático.
Sabor	Picante.
Consistencia	Dura maleable.
Aspecto	Tozos muy grandes Irregulares.
Impurezas Visibles	No presenta.

**Cuadro II-15** Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de San José.

MUESTRA 5	SAN JOSÉ
	
Color	Marron Rojizo
Olor	Resinoso Aromático.
Sabor	Picante.
Consistencia	Blanda.
Aspecto	Trozos medianos Irregulares
Impurezas Visibles	Pequeñas virutas de madera.

**Cuadro II-16** Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de Volcán Blanco.

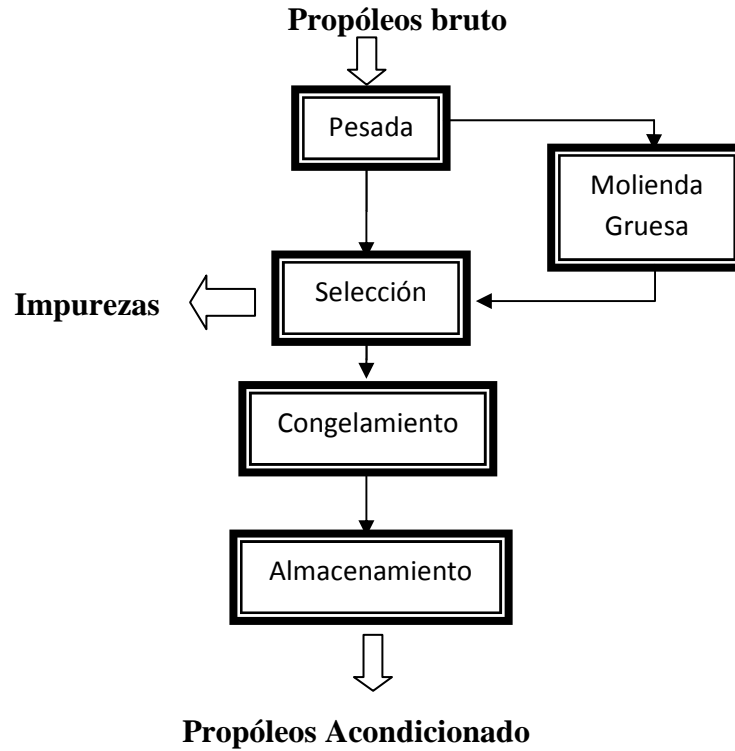
MUESTRA 6	VOLCÁN BLANCO
	
Color	Marron verdoso
Olor	Resinoso muy aromático
Sabor	Muy picante
Consistencia	Blanda maleable
Aspecto	Trozos irregulares, distintos tamaños
Impurezas Visibles	Cera obrada.

**Cuadro II-17** Resumen análisis preliminar del propóleos procedente de la localidad de Tariquía.

MUESTRA 7	TARIQUÍA
	
Color	Marron Rojizo.
Olor	Resino aromático
Sabor	Picante
Consistencia	Blanda maleable
Aspecto	Trozos Irregulares, distintos tamaños.
Impurezas Visibles	Pequeñas virutas de madera.

### 2.3.3. Acondicionamiento del propóleo bruto

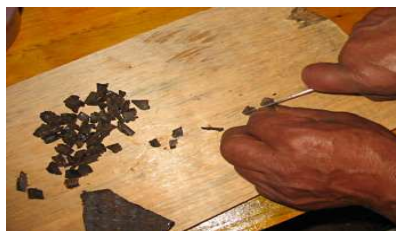
Figura 2-4 Diagrama de bloques para el acondicionamiento del propóleo



Posterior al análisis preliminar se procedió a un acondicionamiento previo que se describe en la figura 2-4 donde como primer paso, se pesaron las distintas muestras registrando los pesos de cada una de ellas, los resultados se muestran en la tabla II-2.

Con los trozos de tamaño se realizó una primera molienda gruesa, que consistía en homogenizar en trozos de tamaño similar la totalidad del propóleos de las distintas muestras, con la ayuda de un cuchillo y una tabla de madera, para disgregarlo e inspeccionar el interior de los conglomerados.

Figura 2-5 Molienda Gruesa.



**Tabla II-2** Datos de los pesos de las distintas muestras de Propóleos recolectados en la reserva de Tariquía.

<b>MUESTRA</b>	<b>PESO(gr)</b>
<b>Salinas</b>	594,956
<b>Chiquiacá</b>	556,582
<b>La Planchada</b>	503,382
<b>Motoví</b>	607,025
<b>San José</b>	458,870
<b>Volcán Blanco</b>	579,218
<b>Tariquía</b>	477,688

A continuación, se descartan las impurezas mecánicas visibles (trozos de cera, restos de madera, partes de abejas, etc.) y las no conformidades (propóleos con elevado contenido de cera, virutas de madera con pintura, etc.) se pesaron y tabularon los datos mismos que se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla II-3** Tabulación de datos de peso de muestras, e impurezas retiradas de cada una de ellas.

<b>MUESTRA</b>	<b>PESO(gr)</b>	<b>PESO DE IMPUREZAS RETIRADAS(gr.)</b>	<b>PORCENTAJE DE IMPUREZAS RETIRADAS(gr.)</b>
<b>Salinas</b>	594,96	16,50	2,77
<b>Chiquiacá</b>	556,58	25,65	4,61
<b>La Planchada</b>	503,38	10,34	2,05
<b>Motoví</b>	607,03	7,89	1,30
<b>San José</b>	458,87	12,69	2,77
<b>Volcán Blanco</b>	579,22	9,79	1,69
<b>Tariquía</b>	477,69	10,88	2,28

Una vez retiradas las impurezas, se almacenaron en un lugar fresco y seco, protegido de la luz directa hasta el momento en el que se procedió con el análisis del propóleos bruto.

Con todo este tratamiento del propóleos se termina con la fase de acondicionamiento, y se da paso al análisis del propóleos bruto.

**2.3.4. Preparación de la muestra.-** La muestra de propóleos acondicionada, previamente embolsada herméticamente se congela a manera de eliminar la posible presencia de la polilla de la cera y además para que en este estado se facilite en gran medida la molienda fina. Esta operación se realiza entre -18 y -20 °C durante 24 horas; posterior a este tratamiento, se procedió a la molienda fina en procesador eléctrico (figura 2-6), con intervalos de 30 segundos verificando la consistencia de la muestra y teniendo cuidado de no calentar demasiado la muestra por el trabajo mecánico de la molienda; después se realiza la clasificación por tamizado (figura 2-7) recogiendo de esta operación la distribución granulométrica que se detalla más adelante en las tablas II-4 a II-6:

**Figura 2-6** Procesador Eléctrico



**Figura 2-7** Tamiz de acero inoxidable





**Tabla II-4** Datos de la molienda fina y tamizado de las muestras.

MALLA	SALINAS		CHIQUIACA		LA PLANCHADA	
	PESO(g)	%	PESO(g)	%	PESO(g)	%
Rechazo 0,063mm	127,75	22,08	0,00	0,00	0,00	0,00
Rechazo 0,25mm	137,76	23,82	158,80	29,91	129,64	26,29
Rechazo 0,5mm	187,58	32,43	153,27	28,87	162,43	32,95
Rechazo > 1mm	125,37	21,67	218,87	41,22	200,97	40,76
TOTALES	578,46	100,00	530,93	100,00	493,04	100,00

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla II-5** Datos de la molienda fina y tamizado de las muestras.

MALLA	MOTOVÍ		SAN JOSÉ		VOLCÁN BLANCO	
	PESO	%	PESO	%	PESO	%
Rechazo 0,063mm	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rechazo 0,25mm	27,90	4,66	69,38	15,55	107,77	18,93
Rechazo 0,5mm	81,87	13,66	115,95	25,99	124,88	21,93
Rechazo > 1mm	489,37	81,68	260,85	58,46	336,77	59,14
TOTALES	599,14	100,00	446,18	100,00	569,43	100,00

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla II-6** Datos de la molienda fina y tamizado de las muestras.

MALLA	TARIQUIA	
	PESO	%
Rechazo 0,063mm	0,00	0,00
Rechazo 0,25mm	88,95	19,05
Rechazo 0,5mm	115,15	24,67
Rechazo > 1mm	262,71	56,28
TOTALES	466,81	100,00

**Fuente:** Elaboración propia

Se conservaron las muestras en congelador, al abrigo de la luz, en recipientes de vidrio herméticos y etiquetados señalando el lugar de procedencia y la malla que los retuvo, hasta que se lleve a cabo el análisis, y posterior extracción según diseño factorial.

**2.3.5 Análisis del propóleos bruto** Se detalla a continuación:

**2.3.5.1. Determinación de Humedad**

❖ **Instrumental**

-Balanza de humedad EUROTERM.

-Platillos pequeños de papel de Aluminio.

❖ **Procedimiento**

Pesar las muestras por cada una de las regiones para análisis, cada una de aproximadamente 8 gr. siguiendo los pasos para el uso del equipo. Registrar el peso exacto.

**Figura 2-8** Balanza de humedad Eurotherm



Programar la balanza en modo IPS, que nos da la posibilidad de detener el análisis automáticamente al momento de tener peso constante, predefiniendo lo que es peso constante que para estos ensayos se determinó que si la masa no varía en 3 mg. por minuto se ha alcanzado el peso constante, se programa la temperatura, de secado y posteriormente se pesa el papel de aluminio, se tara, se pesa la muestra de 8 gr aproximadamente, lo más pronto posible para no hacer descender mucho la temperatura y se inicia el ensayo, presionando la tecla star.

Una vez arrancado el ensayo, se recopilan los datos de peso seco, porcentaje de humedad, y porcentaje de residuo seco, cada 30 segundos, con cuyos datos se grafica la curva de secado de cada uno de los ensayos las mismas se muestran en el capítulo III.

### **Resultados:**

El análisis de humedad de la muestra, para lo cual se tuvieron en cuenta tres variables, con las que se hicieron ensayos en la balanza de humedad EUROTERM, fueron la granulometría, tamaño, y la temperatura de secado de la muestra; se mantuvo constante la muestra de propóleos para poder evaluar el efecto de estas variables. Para esto se eligió la muestra de Salinas que a simple vista presentaba propiedades intermedias de humedad entre las muestras.

Se comenzó haciendo ensayos con una muestra de 3 gr. A temperatura de 100 °C según ensayos (Bedascarrasbure, E. Maldonado, L. Fierro Morales, W. Álvarez, A. 2006), pero el resultado fue una muestra fundida y quemada, que al partirla se notaban rastros de humedad que había sido retenidos por la capa externa fundida.

**Figura 2-9** Muestra fundida en el ensayo de determinación de la humedad.



Por lo que se decide bajar la temperatura de secado a 80°C, y se realiza otro ensayo y se evidencia los mismos resultados, se baja a 70 °C, se observa mejoría pero aún no se logra un secado homogéneo, por lo que se prueba con 65°C, temperatura a la cual la muestra se comporta de manera óptima; se nota un secado homogéneo, efectivo y no se tuvo problemas de fundición de la muestra, por lo que se aumenta el tamaño de

la muestra a 8 gr. Y se repitieron los ensayos a distintas temperaturas, comprobándose la temperatura de 65°C como la temperatura ideal para el secado, debido a la conservación de propiedades de las muestras a la extracción de humedad notablemente mayor.

Estos ensayos se realizaron con una muestra de mezcla de distintas granulometrías, por lo que se decide realizar ensayos a distintas granulometrías y se seleccionan el rechazo de 0,5 mm y 0,25 mm, por considerarse que tenían un tamaño lo suficientemente pequeño como para mejorar el secado y la extracción, pero no tan fino como para dificultar demasiado la molienda (Para fines prácticos aplicables y reproducibles).

**Figura 2-10** Muestra de propóleos secado a 65 °C.



Con estas nuevas granulometrías se realizan los ensayos E8 Y E9, siendo el ensayo E9 correspondiente a la granulometría 0,5 mm el que dio levemente mejores resultados, como se puede verificar en la tabla II-7 pero se consideraron mejores, por la facilidad que se tiene de alcanzar esta granulometría.

A continuación, se detallan datos de peso seco, porcentaje de humedad y porcentaje de residuo seco, que se recopilaron de cada uno de los ensayos de secado, los datos se tomaron cada 30 segundos, y se registraron en el formulario que se muestra; además, se incluye en el registro de cada ensayo una observación de lo relevante de cada uno de ellos y una conclusión al respecto de las observaciones.

**Tabla II-7** Datos de ensayos de granulometría de secado de Propóleos en Balanza de humedad EUROTHERM, muestras de Salinas (rechazo 0,25 y rechazo 0,5 mm) y Chiquiacá (rechazo 0,5mm).

<b>BALANZA EUROTHERM</b> (Hasta peso constante "IPS")																			
Nº ENSAYO/FECHA=		E8			16-dic-10		Nº ENSAYO/FECHA=		E9			16-dic-10		Nº ENSAYO/FECHA=		E10		17-dic-10	
MUESTRA=		SALINAS- 0,25 mm					MUESTRA=		SALINAS- 0,5 mm					MUESTRA=		CHIQUIACA-0,5 mm			
TEMPERATURA=		65 ºC					TEMPERATURA=		65 ºC					TEMPERATURA=		65 ºC			
PESO INICIAL=		8.013 gr.					PESO INICIAL=		8.017 gr.					PESO INICIAL=		8.014 gr.			
Nº	Tiempo	PESO (gr.)	%RESIDUO SECO	HUMEDAD	Nº	Tiempo	PESO (gr.)	%RESIDUO SECO	HUMEDAD	Nº	Tiempo	PESO (gr.)	%RESIDUO SECO	HUMEDAD					
1	30	8.002	99.86	0.14	1	30	8.004	99.84	0.16	1	30	7.995	99.76	0.24					
2	60	7.996	99.79	0.21	2	60	7.995	99.73	0.27	2	60	7.985	99.64	0.36					
3	90	7.979	99.58	0.42	3	90	7.978	99.51	0.49	3	90	7.979	99.56	0.44					
4	120	7.965	99.40	0.60	4	120	7.963	99.33	0.67	4	120	7.972	99.48	0.52					
5	150	7.960	99.34	0.66	5	150	7.958	99.26	0.74	5	150	7.968	99.43	0.57					
6	180	7.951	99.23	0.77	6	180	7.949	99.15	0.85	6	180	7.963	99.36	0.64					
7	210	7.946	99.16	0.84	7	210	7.943	99.08	0.92	7	210	7.96	99.33	0.67					
8	240	7.943	99.13	0.87	8	240	7.939	99.03	0.97	8	240	7.957	99.29	0.71					
9	270	7.936	99.04	0.96	9	270	7.934	98.96	1.04	9	270	7.955	99.26	0.74					
10	300	7.933	99.00	1.00	10	300	7.931	98.93	1.07	10	300	7.953	99.24	0.76					
11	330	7.929	98.95	1.05	11	330	7.927	98.88	1.12	11	330	7.95	99.20	0.80					
12	360	7.925	98.90	1.10	12	360	7.923	98.83	1.17	12	360	7.947	99.16	0.84					
13	390	7.922	98.86	1.14	13	390	7.921	98.80	1.20	13	390	7.943	99.11	0.89					
14	420	7.919	98.83	1.17	14	420	7.918	98.77	1.23	14	420	7.94	99.08	0.92					
15	450	7.915	98.78	1.22	15	450	7.914	98.72	1.28	15	450	7.936	99.03	0.97					
16	480	7.912	98.74	1.26	16	480	7.911	98.68	1.32	16	480	7.934	99.00	1.00					
17	510	7.907	98.68	1.32	17	510	7.906	98.62	1.38	17	510	7.932	98.98	1.02					
18	540	7.904	98.64	1.36	18	540	7.903	98.58	1.42	18	540	7.929	98.94	1.06					
19	570	7.902	98.61	1.39	19	570	7.900	98.54	1.46	19	570	7.927	98.91	1.09					
20	600	7.899	98.58	1.42	20	600	7.898	98.52	1.48	20	600	7.925	98.89	1.11					
21	630	7.897	98.55	1.45	21	630	7.895	98.48	1.52	21	630	7.922	98.85	1.15					
22	660	7.894	98.51	1.49	22	660	7.893	98.45	1.55	22	660	7.92	98.83	1.17					
23	690	7.891	98.48	1.52	23	690	7.890	98.42	1.58	23	690	7.92	98.83	1.17					
24	720	7.888	98.44	1.56	24	720	7.887	98.38	1.62	24	720	7.918	98.80	1.20					
25	750	7.885	98.40	1.60	25	750	7.884	98.34	1.66	25	750	7.918	98.80	1.20					
26	780	7.883	98.38	1.62	26	780	7.881	98.30	1.70	26	780	-	-	-					
27	810	7.879	98.33	1.67	27	810	7.878	98.27	1.73	27	810	-	-	-					
28	840	7.877	98.30	1.70	28	840	7.875	98.23	1.77	28	840	-	-	-					
29	870	7.874	98.27	1.73	29	870	7.872	98.19	1.81	29	870	-	-	-					
30	900	7.870	98.22	1.78	30	900	7.869	98.15	1.85	30	900	-	-	-					
31	930	7.866	98.17	1.83	31	930	7.867	98.13	1.87	31	930	-	-	-					
32	960	7.864	98.14	1.86	32	960	7.865	98.10	1.90	32	960	-	-	-					
33	990	7.861	98.10	1.90	33	990	7.863	98.08	1.92	33	990	-	-	-					
34	1020	7.859	98.08	1.92	34	1020	7.862	98.07	1.93	34	1020	-	-	-					
35	1050	7.858	98.07	1.93	35	1050	7.861	98.05	1.95	35	1050	-	-	-					
36	1080	7.858	98.06	1.94	36	1080	-	-	-	36	1080	-	-	-					
OBSERVACIONES: Secado óptimo, se observó excelente estado de la muestra. CONCLUSIONES: Datos representativos, para la curva de secado.					OBSERVACIONES: Secado óptimo, se observó excelente estado de la muestra. CONCLUSIONES: Datos representativos, para la curva de secado.					OBSERVACIONES: Secado óptimo, se observó excelente estado de la muestra. CONCLUSIONES: Datos representativos, para la curva de secado.									

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla II-8** Recopilación de datos de ensayos de secado de Propóleos en Balanza de humedad EUROTHERM de las muestras de La Planchada, Motoví y San José.

<b>BALANZA EUROTHERM</b> (Hasta peso constante "IPS")														
Nº ENSAYO/FECHA=		E11	16-dic-10	Nº ENSAYO/FECHA=		E12	17-dic-10	Nº ENSAYO/FECHA=		E13	22-dic-10			
MUESTRA=		LA PLANCHADA-0,5 mm		MUESTRA=		MOTOVÍ-0,5 mm		MUESTRA=		SAN JOSÉ-0,5				
TEMPERATURA=		65 °C		TEMPERATURA=		65 °C		TEMPERATURA=		65 °C				
PESO INICIAL=		8.004 gr.		PESO INICIAL=		7.995 gr.		PESO INICIAL=		8.016 gr.				
Nº	Tiempo	PESO (gr.)	%RESIDUO SECO	HUMEDAD	Nº	Tiempo	PESO (gr.)	%RESIDUO SECO	HUMEDAD	Nº	Tiempo	PESO (gr.)	%RESIDUO SECO	HUMEDAD
1	30	7.994	99.88	0.12	1	30	7.983	99.85	0.15	1	30	8.006	99.88	0.12
2	60	7.987	99.79	0.21	2	60	7.968	99.66	0.34	2	60	7.996	99.75	0.25
3	90	7.977	99.66	0.34	3	90	7.950	99.44	0.56	3	90	7.986	99.63	0.37
4	120	7.969	99.56	0.44	4	120	7.934	99.24	0.76	4	120	7.975	99.49	0.51
5	150	7.961	99.46	0.54	5	150	7.922	99.09	0.91	5	150	7.968	99.40	0.60
6	180	7.956	99.40	0.60	6	180	7.912	98.96	1.04	6	180	7.962	99.33	0.67
7	210	7.952	99.35	0.65	7	210	7.902	98.84	1.16	7	210	7.955	99.24	0.76
8	240	7.948	99.30	0.70	8	240	7.894	98.74	1.26	8	240	7.95	99.18	0.82
9	270	7.945	99.26	0.74	9	270	7.886	98.64	1.36	9	270	7.945	99.11	0.89
10	300	7.943	99.24	0.76	10	300	7.879	98.55	1.45	10	300	7.941	99.06	0.94
11	330	7.941	99.21	0.79	11	330	7.870	98.44	1.56	11	330	7.936	99.00	1.00
12	360	-	-	-	12	360	7.862	98.34	1.66	12	360	7.931	98.94	1.06
13	390	-	-	-	13	390	7.854	98.24	1.76	13	390	7.926	98.88	1.12
14	420	-	-	-	14	420	7.846	98.14	1.86	14	420	7.92	98.80	1.20
15	450	-	-	-	15	450	7.840	98.06	1.94	15	450	7.915	98.74	1.26
16	480	-	-	-	16	480	7.836	98.01	1.99	16	480	7.913	98.72	1.28
17	510	-	-	-	17	510	7.830	97.94	2.06	17	510	7.91	98.68	1.32
18	540	-	-	-	18	540	7.824	97.86	2.14	18	540	7.906	98.63	1.37
19	570	-	-	-	19	570	7.818	97.79	2.21	19	570	7.903	98.59	1.41
20	600	-	-	-	20	600	7.814	97.74	2.26	20	600	7.9	98.55	1.45
21	630	-	-	-	21	630	7.809	97.67	2.33	21	630	7.897	98.52	1.48
22	660	-	-	-	22	660	7.804	97.61	2.39	22	660	7.894	98.48	1.52
23	690	-	-	-	23	690	7.801	97.57	2.43	23	690	7.891	98.44	1.56
24	720	-	-	-	24	720	7.797	97.52	2.48	24	720	7.889	98.42	1.58
25	750	-	-	-	25	750	7.794	97.49	2.51	25	750	7.886	98.38	1.62
26	780	-	-	-	26	780	7.791	97.45	2.55	26	780	7.884	98.35	1.65
27	810	-	-	-	27	810	7.787	97.40	2.60	27	810	7.881	98.32	1.68
28	840	-	-	-	28	840	7.784	97.36	2.64	28	840	7.879	98.29	1.71
29	870	-	-	-	29	870	7.781	97.32	2.68	29	870	7.878	98.28	1.72
30	900	-	-	-	30	900	7.78	97.29	2.71	30	900	7.875	98.24	1.76
31	930	-	-	-	31	930	7.78	97.26	2.74	31	930	7.874	98.23	1.77
32	960	-	-	-	32	960	7.77	97.24	2.76	32	960	7.873	98.22	1.78
33	990	-	-	-	33	990	7.77	97.20	2.80	33	990	-	-	-
34	1020	-	-	-	34	1020	7.77	97.16	2.84	34	1020	-	-	-
35	1050	-	-	-	35	1050	7.77	97.15	2.85	35	1050	-	-	-
36	1080	-	-	-	36	1080	7.77	97.12	2.88	36	1080	-	-	-
<b>OBSERVACIONES:</b> Secado óptimo, se observó excelente estado de la muestra. <b>CONCLUSIONES:</b> Datos representativos, para la curva de secado.					<b>OBSERVACIONES:</b> Secado óptimo, se observó excelente estado de la muestra. <b>CONCLUSIONES:</b> Datos representativos, para la curva de secado.					<b>OBSERVACIONES:</b> Secado óptimo, se observó excelente estado de la muestra. <b>CONCLUSIONES:</b> Datos representativos, para la curva de secado.				

**Fuente:** Elaboración Propia.

**Tabla II-9** Recopilación de datos de ensayos de secado de Propóleos en Balanza de humedad EUROTHERM de las muestras de Volcán Blanco y Tariquía.

<b>BALANZA EUROTHERM</b> (Hasta peso constante"IPS")													
Nº ENSAYO/FECHA=		E14			16-dic-10			Nº ENSAYO/FECHA=		E15		16-dic-10	
MUESTRA=		VOLCÁN BLANCO(6)					MUESTRA=		TARIQUIA(7)				
TEMPERATURA=		65 °C					TEMPERATURA=		65 °C				
PESO INICIAL=		8.001 gr.					PESO INICIAL=		8.011 gr.				
Nº	Tiempo	PESO (gr.)	%RESIDUO SECO	HUMEDAD	Nº	Tiempo	PESO (gr.)	%RESIDUO SECO	HUMEDAD				
1	30	7.990	99.86	0.14	1	30	8.005	99.93	0.07				
2	60	7.979	99.73	0.27	2	60	7.997	99.83	0.17				
3	90	7.963	99.53	0.47	3	90	7.987	99.70	0.30				
4	120	7.948	99.34	0.66	4	120	7.979	99.60	0.40				
5	150	7.938	99.21	0.79	5	150	7.973	99.53	0.47				
6	180	7.930	99.11	0.89	6	180	7.966	99.44	0.56				
7	210	7.924	99.04	0.96	7	210	7.961	99.38	0.62				
8	240	7.920	98.99	1.01	8	240	7.956	99.31	0.69				
9	270	7.916	98.94	1.06	9	270	7.952	99.26	0.74				
10	300	7.913	98.90	1.10	10	300	7.948	99.21	0.79				
11	330	7.911	98.88	1.12	11	330	7.944	99.16	0.84				
12	360	7.910	98.86	1.14	12	360	7.944	99.16	0.84				
13	390	-	-	-	13	390	7.938	99.09	0.91				
14	420	-	-	-	14	420	7.934	99.04	0.96				
15	450	-	-	-	15	450	7.929	98.98	1.02				
16	480	-	-	-	16	480	7.926	98.94	1.06				
17	510	-	-	-	17	510	7.921	98.88	1.12				
18	540	-	-	-	18	540	7.918	98.84	1.16				
19	570	-	-	-	19	570	7.915	98.80	1.20				
20	600	-	-	-	20	600	7.912	98.76	1.24				
21	630	-	-	-	21	630	7.908	98.71	1.29				
22	660	-	-	-	22	660	7.906	98.69	1.31				
23	690	-	-	-	23	690	7.902	98.64	1.36				
24	720	-	-	-	24	720	7.900	98.61	1.39				
25	750	-	-	-	25	750	7.897	98.58	1.42				
26	780	-	-	-	26	780	7.894	98.54	1.46				
27	810	-	-	-	27	810	7.892	98.51	1.49				
28	840	-	-	-	28	840	7.890	98.49	1.51				
29	870	-	-	-	29	870	7.887	98.45	1.55				
30	900	-	-	-	30	900	7.885	98.43	1.57				
31	930	-	-	-	31	930	7.884	98.41	1.59				
32	960	-	-	-	32	960	-	-	-				
33	990	-	-	-	33	990	-	-	-				
34	1020	-	-	-	34	1020	-	-	-				
35	1050	-	-	-	35	1050	-	-	-				
36	1080	-	-	-	36	1080	-	-	-				

**OBSERVACIONES:** Secado óptimo, se observó excelente estado de la muestra.  
**CONCLUSIONES:** Datos representativos, para la curva de secado.

**OBSERVACIONES:** Secado óptimo, se observó excelente estado de la muestra.  
**CONCLUSIONES:** Datos representativos, para la curva de secado.

**Fuente:** Elaboración propia

### 2.3.5.2. Extracción de ceras, resinas y determinación de impurezas mecánicas

Para este ensayo se trabajó con las 7 muestras de propóleos previamente molidos, tamizados y secados.

Se trabajó primero con la muestra de Salinas para determinar con cuál de las granulometrías se obtenían mejores resultados en la extracción. Para el efecto se emplearon muestras de rechazo de 0,25 mm y rechazo de 0,5 mm.

El ensayo se realizó en el Laboratorio de Operaciones Unitarias (LOU) y el procedimiento se muestra a continuación:

#### ❖ Equipos y material de laboratorio empleado

- Extractor por solvente Selecta, tipo Soxhlet.
- Cartuchos de celulosa.
- Papel filtro.
- Estufa.
- Desecador.

**Figura 2-11** Extractor por solvente tipo Soxhlet, Selecta.



**Figura 2-12** Desecador de cristal





### ❖ **Reactivos**

- n-hexano (ceras).
- Alcohol etílico (resinas).

### ❖ **Procedimiento**

Para llevar adelante esta determinación se siguió el procedimiento para la extracción en el equipo de extracción por solvente Selecta, detallado en el anexo 2.

Posterior al ensayo de la humedad, se procedió con las mismas muestras, ya secas a realizar la extracción, la misma que se realizó en base seca usando las mismas muestras desecadas, con la doble finalidad de lograr una mejor extracción, y determinar la composición total en base a una sola muestra; en este ensayo también resultó mejor la extracción con la granulometría de rechazo 0,5 mm. Por lo que de aquí en más se usó esta granulometría para todos los ensayos, realizándose una remolienda de los rechazos de granulometrías mayores para completar los pesos requeridos para la realización total del proyecto. Lo que implicaba aparte de los 8 gr. por muestra con su respectivo duplicado, y el propóleos para llevar a cabo el diseño factorial para la elaboración de tintura madre.

Para esto se pesan por separado 3 g de propóleos seco para cada cartucho y se miden 50 ml de n-hexano los mismos se vacían en los vasitos de aluminio del extractor, los mismos que se ubican en su lugar para proceder a la extracción, con el siguiente control de tiempos por cada etapa:

La fase de ebullición se programó para 45 minutos.

La fase de extracción por ascenso del solvente se programó en un tiempo de 60 min

La fase de recuperación del solvente se realizó durante 10 min y finalmente la evaporación de los restos de solvente de la cera extraída se realizó durante 5 minutos.

Una vez concluida la extracción se retiraron los vasitos de aluminio que contenían las ceras extraídas; como precaución se metieron los envases a la estufa por 10 minutos a 45 °C Se sacaron para determinar la cantidad de resina extraída, se dejó enfriar las

muestras en un desecador y se procedió a la pesada, se repitió el secado en estufa y enfriado en desecador hasta determinar constancia de peso que se evidencio al obtener una diferencia entre pesadas menor a 5 mg. y por diferencia de pesos se determinó la cantidad de ceras extraídas.

Se cambiaron de vasitos de aluminio y se adicionaron 50 ml de Etanol en cada uno y con los mismos cartuchos (la misma muestra sin ceras por la extracción inicial) se procedió respetando los tiempos de control por cada etapa a la extracción de resinas:

La fase de ebullición se programó para 45 minutos.

La fase de extracción por ascenso del solvente se programó en un tiempo de 60 min

La fase de recuperación del solvente se realizó durante 10 min y finalmente la evaporación de los restos de solvente de la cera extraída se realizó durante 5 minutos.

Una vez concluida la extracción se retiraron los vasitos de aluminio que contenían las resinas extraídas; como precaución se metieron los envases a la estufa por 10 minutos a 45 °C Se sacaron para determinar la cantidad de resina extraída, se dejó enfriar las muestras en un desecador y se procedió a la pesada, se repitió el secado en estufa y enfriado en desecador hasta determinar constancia de peso que se evidencio al obtener una diferencia entre pesadas menor a 5 mg. y por diferencia de pesos se determinó la cantidad de resinas extraídas.

❖ Cálculos:

$$\% \text{ de Ceras} = \left( \frac{PC}{Pm} \right) \times 100$$

$$PC = Pvac - Pva$$

**Siendo:**

PC: Peso de ceras extraídas.

Pm: Peso exacto del total de muestra que se somete a extracción.

Pvac: Peso de vasito de aluminio sometido a secado + cera extraída.

Pva: Peso de vasito de aluminio tara (Vaso sometido a secado por 15 minutos, enfriado en desecador, y repite este paso hasta peso constante menos de 5 mg de diferencia entre pesada).

$$\% \text{ de Resinas} = \left( \frac{PR}{Pm} \right) \times 100$$

$$PC = Pvar - Pva$$

**Siendo:**

PC: Peso de resinas extraídas.

Pm: Peso exacto del total de muestra que se somete a extracción.

Pvar: Peso de vasito de aluminio sometido a secado + resina extraída.

Pva: Peso de vasito de aluminio tara (Vaso sometido a secado por 15 minutos, enfriado en desecador, se pesa, y repite este paso hasta peso constante menos de 5 mg de diferencia entre pesada).

### **2.3.5.3. Determinación de Impurezas Mecánicas.-**

#### **❖ Instrumental**

- Estufa Selecta.
- Balanza analítica.
- Desecador

#### **❖ Procedimiento**

Se saca del extractor el remanente de la muestra (en cartucho o encerrada en papel) luego de la extracción de ceras y resinas, se seca en la estufa a 45 °C, se coloca en un desecador hasta temperatura ambiente y se pesa. Se repite el último procedimiento hasta lograr constancia de peso, lo cual se verifica cuando dos pesadas sucesivas no difieren entre sí en más de 5 mg.

### **Cálculos.-**

Se calculan las impurezas mecánicas, IM%, mediante la fórmula siguiente:

$$IM \% = \frac{(P1 - P)}{m} * 100$$

### **Siendo:**

P1: La masa del cartucho o papel filtro + residuo de extracción de ceras y resinas (secos);

P: La masa del cartucho o papel vacío (seco);

m: La masa de la muestra.

❖ **Resultados.-** Los resultados de las 7 muestras analizadas se muestran de una forma resumida en las tablas II-10 a II-16, incluyendo todos los datos de pesadas, cálculos de pesos y porcentajes de ceras, resinas e impurezas mecánicas; además, la determinación de las concentraciones totales, incluida ya la concentración de agua que se determinó en el ensayo anterior. En este cálculo se introdujo una corrección, ya que la determinación se hizo sobre la muestra seca, es decir, no se tomó en cuenta la humedad para la composición total, por lo que las correcciones se detallan a continuación:

$$\% \text{ de Ceras} = \%Cms * \left(1 - \left(\frac{\% \text{ de Humedad}}{100}\right)\right)$$

Siendo:

%Cms: Porcentaje de ceras de la muestra seca.

% de Humedad: El porcentaje de humedad determinado en el ensayo de humedad.

$$\% \text{ de Resinas} = \%Rms * \left(1 - \left(\frac{\% \text{ de Humedad}}{100}\right)\right)$$

Siendo: %Rms: Porcentaje de resinas de la muestra seca.

% de Humedad: El porcentaje de humedad determinado en el ensayo de humedad.

$$\% \text{ de Impurezas} = \%Ims * \left(1 - \left(\frac{\% \text{ de Humedad}}{100}\right)\right)$$

Siendo:

%Rms: Porcentaje de resinas de la muestra seca.

% de Humedad: El porcentaje de humedad determinado en el ensayo de humedad.

**Tabla II-10** Recopilación de datos de ensayos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de Salinas 0,5 - 0,25 mm.

<b>DATOS EXTRACCIONES DE CERA Y RESINAS;IMPUREZAS MECÁNICAS</b>			
<b>FECHA: 16/12/10</b>			
<b>% DE HUMEDAD:</b>	<b>1,94</b>	<b>1,95</b>	
<b>GRANULOMETRÍA(mm):</b>	<b>0,25</b>	<b>0,5</b>	
<b>LUGAR:</b>	<b>SALINAS</b>		
<b>MUESTRA:</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	
<b>DETALLE</b>	<b>DATOS</b>	<b>DATOS</b>	<b>UNIDADES</b>
PESO DE TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2	21,997	22,198	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 1-2	24,051	23,797	gr.
CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2	3,248	3,491	gr.
PESO DE PAPEL FILTRO 1-2	0,526	0,567	gr.
PESO DE LA MUESTRA 1-2	3,000	3,004	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 3-4	24,031	23,876	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR + CERA	24,558	24,329	gr.
PESO DE CERA	0,507	0,532	gr.
PORCENTAJE DE CERA	16,900	17,710	%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA + RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2+PAPEL FILTRO 1-2	28,217	28,689	gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO	2,446	2,433	gr.
PESO DE ALUMINIUM SOLVENT BEAKERS 3-4 + RESINAS	25,658	25,526	gr.
PESO DE RESINA	1,627	1,650	gr.
PORCENTAJE DE RESINA	54,233	54,927	%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2+ RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2 + PAPEL FILTRO 1-2	26,655	27,075	gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA (IMPUREZAS MECÁNICAS)	0,884	0,819	gr.
PORCENTAJE DE IMPUREZAS MECÁNICAS	29,467	27,264	%
SUMA DETERMINACIONES DE CERA RESINAS E IMPUREZAS	3,018	3,001	gr.
PESO DE DETERMINACIONES - PESO DE MUESTRA	0,018	-0,003	gr.
<p><b>OBSERVACIONES.-</b> En la extracción con N-Hexano burbujeo el vaso Nº 1; Se recuperaron 37 y 34 ml de N-Hexano de los vasos 1 y 2 respectivamente, el mismo que estaba en perfectas condiciones. Se recuperaron 38,5 y 40 ml de etanol en perfecto estado.</p> <p>Se tubo mejores rendimiento en las extracciones con la granulometría de 0,5m/m.</p> <p><b>CONCLUSIONES:</b> Como se determinó la granulometría adecuada, la composición de la muestra es:</p>			
	HUMEDAD=	1,95	%
	CERAS=	17,36	%
	RESINAS=	53,86	%
	IMPUREZAS=	26,73	%
	TOTAL=	<b>99,90</b>	%

**Fuente:** Elaboración propia.

**Tabla II-11** Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta tipo Soxhlet de la muestras de Chiquiacá 0,5 mm.

<b>DATOS EXTRACCIONES DE CERA Y RESINAS; IMPUREZAS MECÁNICAS</b>			
<b>FECHA:</b> 17/12/10			
<b>% DE HUMEDAD:</b> 1,20%			
<b>GRANULOMETRÍA:</b> 0,5 m/m			
	<b>LUGAR:</b>	<b>CHIQUIACA (2)</b>	
	<b>MUESTRA:</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>DETALLE</b>		<b>DATOS</b>	<b>DATOS</b>
			<b>UNIDADES</b>
PESO DE TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2		22,193	22,015
			gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 1-2		23,563	24,002
			gr.
CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2		3,381	3,440
			gr.
PESO DE PAPEL FILTRO 1-2		0,639	0,603
			gr.
PESO DE LA MUESTRA 1-2		3,004	3,033
			gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 3-4		23,799	24,052
			gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR + CERA		24,274	24,551
			gr.
PESO DE CERA		0,711	0,689
			gr.
PORCENTAJE DE CERA		23,668	22,717
			%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA + RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO + TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2 + PAPEL FILTRO 1-2		28,433	28,445
			gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO		2,220	2,387
			gr.
PESO DE ALUMINIUM SOLVENT BEAKERS 3-4 + RESINAS		25,597	26,125
			gr.
PESO DE RESINA		1,798	1,823
			gr.
PORCENTAJE DE RESINA		59,854	60,106
			%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2 + RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA + TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2 + PAPEL FILTRO 1-2		26,695	26,911
			gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA (IMPUREZAS MECÁNICAS)		0,482	0,498
			gr.
PORCENTAJE DE IMPUREZAS MECÁNICAS		16,045	16,419
			%
SUMA DETERMINACIONES DE CERA RESINAS E IMPUREZAS		2,991	3,010
			gr.
PESO DE DETERMINACIONES - PESO DE MUESTRA		-0,013	-0,023
			gr.
<b>OBSERVACIONES.-</b> En la extracción con N-Hexano se recuperaron 26 y 37,5 ml de N-Hexano de los vasos 1 y 2 respectivamente, el mismo que estaba en perfectas condiciones. Se recuperaron 35 y 36 ml de etanol en perfecto estado.			
<b>CONCLUSIONES.-</b> La composición de esta muestra es:			
	HUMEDAD=	1,20	1,20 %
	CERAS=	23,38	22,44 %
	RESINAS=	59,14	59,38 %
	IMPUREZAS=	15,85	16,22 %
	TOTAL=	<b>99,57</b>	<b>99,25 %</b>

**Fuente:** Elaboración propia.

**Tabla II-12** Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de Chiquiacá 0,5

<b>DATOS EXTRACCIONES DE CERA Y RESINAS;IMPUREZAS MECÁNICAS</b>			
<b>FECHA:</b> 16/12/10			
<b>% DE HUMEDAD:</b> 0,80			
<b>GRANULOMETRÍA:</b> 0,5 m/m			
	<b>LUGAR:</b>	<b>LA PLANCHADA (3)</b>	
	<b>MUESTRA:</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>DETALLE</b>	<b>DATOS</b>	<b>DATOS</b>	<b>UNIDADES</b>
PESO DE TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2	22,200	22,003	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 1-2	23,846	24,022	gr.
CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2	3,466	3,246	gr.
PESO DE PAPEL FILTRO 1-2	0,875	0,854	gr.
PESO DE LA MUESTRA 1-2	3,035	3,034	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 3-4	24,000	23,564	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR + CERA	24,628	24,812	gr.
PESO DE CERA	0,782	0,790	gr.
PORCENTAJE DE CERA	25,766	26,038	%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA + RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2+PAPEL FILTRO 1-2	28,815	28,304	gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO	2,274	2,201	gr.
PESO DE ALUMINIUM SOLVENT BEAKERS 3-4 + RESINAS	25,654	25,119	gr.
PESO DE RESINA	1,654	1,555	gr.
PORCENTAJE DE RESINA	54,498	51,252	%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2+ RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2 + PAPEL FILTRO 1-2	27,165	26,819	gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA (IMPUREZAS MECÁNICAS)	0,624	0,716	gr.
PORCENTAJE DE IMPUREZAS MECÁNICAS	20,560	23,599	%
SUMA DETERMINACIONES DE CERA RESINAS E IMPUREZAS	3,060	3,061	gr.
PESO DE DETERMINACIONES - PESO DE MUESTRA	0,025	0,027	gr.
<b>OBSERVACIONES.-</b> En la extracción con N-Hexano se recuperaron 38,5 y 23,5 ml de N-Hexano de los vasos 1 y 2 respectivamente, el mismo que estaba en perfectas condiciones. Se recuperaron 37 y 37,5 ml de etanol en perfecto estado.			
<b>CONCLUSIONES.-</b> La composición de esta muestra es:			
	HUMEDAD=	0,80	0,80 %
	CERAS=	25,56	25,83 %
	RESINAS=	54,06	50,84 %
	IMPUREZAS=	20,40	23,41 %
	TOTAL=	<b>100,82</b>	<b>100,88 %</b>

**Fuente:** Elaboración propia.

**Tabla II-13** Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de Motoví 0,5 mm.

<b>DATOS EXTRACCIONES DE CERA Y RESINAS;IMPUREZAS MECÁNICAS</b>				
<b>FECHA:</b> 17/12/10				
<b>% DE HUMEDAD:</b> 2,88				
<b>GRANULOMETRÍA:</b> 0,5 m/m				
	<b>LUGAR:</b>	<b>MOTOVÍ (4)</b>		
	<b>MUESTRA:</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	
<b>DETALLE</b>		<b>DATOS</b>	<b>DATOS</b>	<b>UNIDADES</b>
PESO DE TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2		22,013	22,193	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 1-2		23,846	24,020	gr.
CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2		3,457	3,458	gr.
PESO DE PAPEL FILTRO 1-2		0,859	0,904	gr.
PESO DE LA MUESTRA 1-2		3,035	3,035	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 3-4		23,798	24,052	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR + CERA		24,780	24,934	gr.
PESO DE CERA		0,934	0,914	gr.
PORCENTAJE DE CERA		30,774	30,115	%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA + RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2+PAPEL FILTRO 1-2		28,256	28,477	gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO		1,927	1,922	gr.
PESO DE ALUMINIUM SOLVENT BEAKERS 3-4 + RESINAS		25,253	25,451	gr.
PESO DE RESINA		1,455	1,399	gr.
PORCENTAJE DE RESINA		47,941	46,096	%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2+ RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2 + PAPEL FILTRO 1-2		26,967	27,271	gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA (IMPUREZAS MECÁNICAS)		0,638	0,716	gr.
PORCENTAJE DE IMPUREZAS MECÁNICAS		21,021	23,591	%
SUMA DETERMINACIONES DE CERA RESINAS E IMPUREZAS		3,027	3,029	gr.
PESO DE DETERMINACIONES - PESO DE MUESTRA		-0,008	-0,006	gr.
<b>OBSERVACIONES.-</b> En la extracción con N-Hexano se recuperaron 36 y 32 ml de N-Hexano de los vasos 1 y 2 respectivamente, el mismo que estaba en perfectas condiciones. Se recuperaron 37 y 37,5 ml de etanol en perfecto estado.				
<b>CONCLUSIONES.-</b> La composición de esta muestra es:				
	HUMEDAD=	2,88	2,88	%
	CERAS=	29,89	29,25	%
	RESINAS=	46,56	44,77	%
	IMPUREZAS=	20,42	22,91	%
	TOTAL=	<b>99,74</b>	<b>99,81</b>	%

**Fuente:** Elaboración propia.



**Tabla II-14** Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de San José 0,5 mm.

<b>DATOS EXTRACCIONES DE CERA Y RESINAS;IMPUREZAS MECÁNICAS</b>			
<b>FECHA:</b> 21/12/10			
<b>% DE HUMEDAD:</b> 1,78 %			
<b>GRANULOMETRÍA:</b> 0,50			
	<b>LUGAR:</b>	<b>SAN JOSÉ (5)</b>	
	<b>MUESTRA:</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>DETALLE</b>	<b>DATOS</b>	<b>DATOS</b>	<b>UNIDADES</b>
PESO DE TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2	22,204	21,977	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 1-2	23,797	24,050	gr.
CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2	3,455	3,146	gr.
PESO DE PAPEL FILTRO 1-2	0,927	0,928	gr.
PESO DE LA MUESTRA 1-2	3,020	3,022	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 3-4	24,030	23,848	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR + CERA	24,855	25,057	gr.
PESO DE CERA	1,058	1,007	gr.
PORCENTAJE DE CERA	35,033	33,322	%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA + RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2+PAPEL FILTRO 1-2	28,410	27,944	gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO	1,824	1,893	gr.
PESO DE ALUMINIUM SOLVENT BEAKERS 3-4 + RESINAS	25,261	25,202	gr.
PESO DE RESINA	1,231	1,354	gr.
PORCENTAJE DE RESINA	40,762	44,805	%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2+ RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2 + PAPEL FILTRO 1-2	27,345	26,737	gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA (IMPUREZAS MECÁNICAS)	0,759	0,686	gr.
PORCENTAJE DE IMPUREZAS MECÁNICAS	25,132	22,700	%
SUMA DETERMINACIONES DE CERA RESINAS E IMPUREZAS	3,048	3,047	gr.
PESO DE DETERMINACIONES - PESO DE MUESTRA	0,028	0,025	gr.
<b>OBSERVACIONES.-</b> En la extracción con N-Hexano se recuperaron 28 y 33,5 ml de N-Hexano de los vasos 1 y 2 respectivamente, el mismo que estaba en perfectas condiciones. Se recuperaron 38,2 y 37,5 ml de etanol en perfecto estado.			
<b>CONCLUSIONES.-</b> La composición de esta muestra es:			
	HUMEDAD=	1,78	1,78 %
	CERAS=	34,41	32,73 %
	RESINAS=	40,04	44,01 %
	IMPUREZAS=	24,69	22,30 %
	TOTAL=	<b>100,91</b>	<b>100,81 %</b>

**Fuente:** Elaboración propia.

**Tabla II-15** Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de Volcán Blanco 0,5 mm.

<b>DATOS EXTRACCIONES DE CERA Y RESINAS;IMPUREZAS MECÁNICAS</b>			
<b>FECHA:</b> 20/12/10			
<b>% DE HUMEDAD:</b> 1,14%			
<b>GRANULOMETRÍA:</b> 0,50			
	<b>LUGAR:</b>	<b>VOLCÁN BLANCO (6)</b>	
	<b>MUESTRA:</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>DETALLE</b>		<b>DATOS</b>	<b>DATOS UNIDADES</b>
PESO DE TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2		21,977	22,206 gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 1-2		23,848	24,017 gr.
CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2		2,848	3,232 gr.
PESO DE PAPEL FILTRO 1-2		0,931	0,950 gr.
PESO DE LA MUESTRA 1-2		3,004	3,090 gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 3-4		24,049	23,796 gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR + CERA		24,597	24,930 gr.
PESO DE CERA		0,749	0,913 gr.
PORCENTAJE DE CERA		24,933	29,547 %
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA + RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2+PAPEL FILTRO 1-2		27,845	28,256 gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO		2,089	1,868 gr.
PESO DE ALUMINIUM SOLVENT BEAKERS 3-4 + RESINAS		25,190	24,924 gr.
PESO DE RESINA		1,141	1,128 gr.
PORCENTAJE DE RESINA		37,983	36,505 %
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2+ RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2 + PAPEL FILTRO 1-2		26,886	27,456 gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA (IMPUREZAS MECÁNICAS)		1,130	1,068 gr.
PORCENTAJE DE IMPUREZAS MECÁNICAS		37,617	34,563 %
SUMA DETERMINACIONES DE CERA RESINAS E IMPUREZAS		3,020	3,109 gr.
PESO DE DETERMINACIONES - PESO DE MUESTRA		0,016	0,019 gr.
<p><b>OBSERVACIONES.-</b> En la extracción con N-Hexano se recuperaron 31 y 35 ml de N-Hexano de los vasos 1 y 2 respectivamente, el mismo que estaba en perfectas condiciones. Se recuperaron 33 y 35 ml de etanol en perfecto estado.</p> <p><b>CONCLUSIONES.-</b> La composición de esta muestra es:</p>			
	HUMEDAD=	1,14	1,14 %
	CERAS=	24,65	29,21 %
	RESINAS=	37,55	36,09 %
	IMPUREZAS=	37,19	34,17 %
	TOTAL=	<b>100,53</b>	<b>100,61 %</b>

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla II-16** Recopilación de datos de extracción por solvente en equipo Selecta, tipo Soxhlet de la muestras de Tariquía 0,5 mm.

<b>DATOS EXTRACCIONES DE CERA Y RESINAS;IMPUREZAS MECÁNICAS</b>				
<b>FECHA:</b> 21/12/10				
<b>% DE HUMEDAD:</b> 1,6%				
<b>GRANULOMETRÍA:</b> 0,50				
	<b>LUGAR:</b>	<b>TARIQUIA(7)</b>		
	<b>MUESTRA:</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	
<b>DETALLE</b>		<b>DATOS</b>	<b>DATOS</b>	
			<b>UNIDADES</b>	
PESO DE TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2		22,201	21,995	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 1-2		24,005	23,568	gr.
CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2		3,208	3,007	gr.
PESO DE PAPEL FILTRO 1-2		0,895	0,921	gr.
PESO DE LA MUESTRA 1-2		3,040	3,041	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR 3-4		23,565	24,002	gr.
PESO DE VASOS DE ALUMINIO DEL EXTRACTOR + CERA		25,062	24,614	gr.
PESO DE CERA		1,057	1,046	gr.
PORCENTAJE DE CERA		34,770	34,397	%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA + RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2+PAPEL FILTRO 1-2		28,152	27,815	gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN N-HEXANO		1,848	1,892	gr.
PESO DE ALUMINIUM SOLVENT BEAKERS 3-4 + RESINAS		24,639	25,213	gr.
PESO DE RESINA		1,074	1,211	gr.
PORCENTAJE DE RESINA		35,329	39,822	%
PESO DE CARTUCHOS DE EXTRACCIÓN DE CELULOSA 1-2+ RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA +TUBOS DE ALUMINIO PARA SOPORTE 1-2 + PAPEL FILTRO 1-2		27,184	26,699	gr.
PESO DE RESIDUO DE EXTRACCIÓN ALCOHOLICA (IMPUREZAS MECÁNICAS)		0,880	0,776	gr.
PORCENTAJE DE IMPUREZAS MECÁNICAS		28,947	25,518	%
SUMA DETERMINACIONES DE CERA RESINAS E IMPUREZAS		3,011	3,033	gr.
PESO DE DETERMINACIONES - PESO DE MUESTRA		-0,029	-0,008	gr.
<p><b>OBSERVACIONES.-</b> En la extracción con N-Hexano se recuperaron 28 y 33,5 ml de N-Hexano de los vasos 1 y 2 respectivamente, el mismo que estaba en perfectas condiciones. Se recuperaron 34 y 34 ml de etanol en perfecto estado.</p> <p><b>CONCLUSIONES.-</b> La composición de esta muestra es:</p>				
	HUMEDAD=	1,60	1,60	%
	CERAS=	34,21	33,85	%
	RESINAS=	34,76	39,19	%
	IMPUREZAS=	28,48	25,11	%
	TOTAL=	<b>99,06</b>	<b>99,74</b>	%

**Fuente:** Elaboración propia

### 2.3.6. Elaboración de la tintura madre de propóleos

Para proceder a la elaboración de tintura madre de propóleos en primer lugar se realiza la preparación de las muestras a las que se aplicará la maceración correspondiente, para esto y obedeciendo al diseño factorial dispuesto, se agruparon las siete muestras en tres grupos en función al porcentaje de resinas; los grupos son; el grupo con porcentaje de resinas mayor a 50% será identificado de aquí en adelante para fines prácticos como concentración 50% en resinas y está constituido por las muestras de Salinas, Chiquiacá y La Planchada.

El segundo grupo esta constituido por las muestras con porcentaje mayor a 40%, las mismas son Motoví y San José, y de aquí en adelante esta muestra compuesta se denominará propóleos con 40% de resinas.

El tercer y último grupo está constituido por las muestras con concentraciones de resinas mayores al 30%, por lo llevarán esta denominación y está conformado por las muestras de Volcán Blanco y Tariquía.

A continuación, se detallan las proporciones en las que se constituyeron los grupos y el porcentaje de resinas de cada muestra y el porcentaje teórico de las muestras conformadas.

**Tabla II-17** Resumen de la formación de muestras para la maceración.

Lugar	Grupo	Porcentaje de cada muestra	Peso necesario	Porcentaje individual de resinas	Porcentajes teóricos de porcentaje de resinas
SALINAS	50	33.33%	238,000	53,86	55,73
CHIQUIACA	50	33.33%	238,000	59,26	
LA PLANCHADA	50	33.33%	238,000	54,09	
MOTOVÍ	40	50,000	357,000	45,66	43,84
SAN JOSÉ	40	50,000	357,000	42,02	
VOLCÁN BLANCO	30	50,000	357,000	33,53	35,25
TARIQUIA	30	50,000	357,000	36,97	
<b>TOTAL</b>			2142,000		

**Fuente:** Elaboración propia

La cantidad total de propóleos, se tomó en cuenta de la tabla II-21, y a partir de esto se calculó el aporte de cada muestra para las muestras compuestas; dichas cantidades se mezclaron minuciosamente una vez molidas y tamizadas.

Una vez preparadas las muestras, se procede a elaborar el diseño factorial que se desarrollará.

### **2.3.6.1. Diseño factorial para la obtención de tintura madre de propóleos**

Para realizar la extracción de los principios activos del propóleos se realiza una maceración del propóleos en una solución hidroalcohólica; este es en esencia el proceso de elaboración de la tintura madre de propóleos.

Para elegir los factores o variables y la variable respuesta, este diseño se apoya en la bibliografía consultada en la que se describen extracciones en las que se utilizan variaciones en las proporciones propóleos/solvente, y el grado alcohólico.

Los niveles de la variable proporción de propóleos/solvente se determinaron en función a las concentraciones de “tinturas” más comunes.

Los niveles de la variable grado alcohólico se determinaron tomando en cuenta la concentración habitual que presenta el alcohol y dos diluciones próximas, tomando en cuenta que existen principios activos en el propóleos que son hidrosolubles.

Después de realizar el análisis del propóleos bruto, se decidió incluir una variable más, que es la concentración de resinas, agrupando las muestras en tres grupos con porcentajes de resinas cercanos, por lo que el diseño factorial definitivo es de tres niveles y tres variables, es decir:  $N^{\circ} \text{ experimentos} = 3^3 = 3*3*3 = 27$

Se realizará una sola repetición siendo la variable respuesta el rendimiento y barrido espectral, ya que estas variables nos permitirán evaluar la extracción desde dos puntos de vista; uno, desde el punto de la cantidad de materia extraída y otro, más referido a la calidad de la materia o principios activos extraídos, los niveles y las variables se muestran en la tabla II-18

**Tabla II-18** Niveles y variables para el diseño factorial

Niveles	P/V (%)	Concentración (°GL)	Resinas en propóleos (%)
Inferior	10	70	30
Intermedio	30	80	40
Superior	50	96	50

**Fuente:** Elaboración propia

### Hipótesis

El porcentaje propóleos (P/V), la concentración del alcohol (C) y el porcentaje de resinas en el propóleos (RP) influyen en la obtención de tintura madre de propóleos.

### Hipótesis nula

En función a las variables se plantea la hipótesis de nulidad en la que estas variables no son significativas, es decir, que sus efectos son nulos, estadísticamente se plantean de la siguiente manera:

$$H_0: (P/V)_1=(P/V)_2=(P/V)_3=0$$

$$H_0: (C)_1=(C)_2=(C)_3=0$$

$$H_0: (RP)_1=(RP)_2=(RP)_3=0$$

$$H_0: (P/V)_1C_1RP_1=(P/V)_1C_1RP_2=(P/V)_1C_1RP_3=(P/V)_2C_1RP_1=(P/V)_2C_1RP_2=(P/V)_2C_1RP_3=(P/V)_2C_2RP_1=(P/V)_2C_2RP_2=(P/V)_2C_2RP_3=(P/V)_2C_3RP_1=(P/V)_2C_3RP_2=(P/V)_2C_3RP_3=(P/V)_3C_1RP_1=(P/V)_3C_1RP_2=(P/V)_3C_1RP_3=(P/V)_3C_2RP_1=(P/V)_3C_2RP_2=(P/V)_3C_2RP_3=(P/V)_3C_3RP_1=(P/V)_3C_3RP_2=(P/V)_3C_3RP_3=0$$

### Hipótesis Experimental

También se plantea que las variables y las interacciones sean significativas, por lo que se plantea la hipótesis experimental la que estadísticamente se plantea de la siguiente manera:

$$H_0: (P/V)_1 \neq (P/V)_2 \neq (P/V)_3; \text{ o no todas son } 0.$$

$H_0: (C)_1 \neq (C)_2 \neq (C)_3$ ; o no todas son 0

$H_0: (RP)_1 \neq (RP)_2 \neq (RP)_3$ ; o no todas son cero

$H_0: (P/V)_1 C_1 RP_1 \neq (P/V)_1 C_1 RP_2 \neq (P/V)_1 C_1 RP_3 \neq (P/V)_2 C_1 RP_1 \neq (P/V)_2 C_1 RP_2 \neq$

$(P/V)_2 C_1 RP_3 \neq (P/V)_2 C_1 RP_1 \neq (P/V)_3 C_1 RP_2 \neq (P/V)_3 C_1 RP_3 \neq (P/V)_1 C_2 RP_1 \neq (P/V)_1 C_2 RP_2 \neq$

$(P/V)_1 C_2 RP_3 \neq (P/V)_2 C_2 RP_1 \neq (P/V)_2 C_2 RP_2 \neq (P/V)_2 C_2 RP_3 \neq (P/V)_2 C_2 RP_1 \neq (P/V)_3 C_2 RP_2 \neq$

$(P/V)_3 C_2 RP_3 \neq (P/V)_1 C_3 RP_1 \neq (P/V)_1 C_3 RP_2 \neq (P/V)_1 C_3 RP_3 \neq (P/V)_2 C_3 RP_1 \neq (P/V)_2 C_3 RP_2 \neq$

$(P/V)_2 C_3 RP_3 \neq (P/V)_3 C_3 RP_1 \neq (P/V)_3 C_3 RP_2 \neq (P/V)_3 C_3 RP_3$ ; o no todas son 0.

**Tabla II-19** Diseño Factorial

N°	P/V (%)	C (°GL)	RP (%)	Extracto seco
1	-1	-1	-1	$(P/V)_1 C_1 RP_1$
2	-1	-1	0	$(P/V)_1 C_1 RP_2$
3	-1	-1	1	$(P/V)_1 C_1 RP_3$
4	0	-1	-1	$(P/V)_2 C_1 RP_1$
5	0	-1	0	$(P/V)_2 C_1 RP_2$
6	0	-1	1	$(P/V)_2 C_1 RP_3$
7	1	-1	-1	$(P/V)_2 C_1 RP_1$
8	1	-1	0	$(P/V)_3 C_1 RP_2$
9	1	-1	1	$(P/V)_3 C_1 RP_3$
10	-1	0	-1	$(P/V)_1 C_2 RP_1$
11	-1	0	0	$(P/V)_1 C_2 RP_2$
12	-1	0	1	$(P/V)_1 C_2 RP_3$
13	0	0	-1	$(P/V)_2 C_2 RP_1$
14	0	0	0	$(P/V)_2 C_2 RP_2$
15	0	0	1	$(P/V)_2 C_2 RP_3$
16	1	0	-1	$(P/V) C_2 RP_1$
17	1	0	0	$(P/V)_3 C_2 RP_2$
18	1	0	1	$(P/V)_3 C_2 RP_3$
19	-1	1	-1	$(P/V)_1 C_3 RP_1$
20	-1	1	0	$(P/V)_1 C_3 RP_2$
21	-1	1	1	$(P/V)_1 C_3 RP_3$
22	0	1	-1	$(P/V)_2 C_3 RP_1$
23	0	1	0	$(P/V)_2 C_3 RP_2$
24	0	1	1	$(P/V)_2 C_3 RP_3$
25	1	1	-1	$(P/V)_3 C_3 RP_1$
26	1	1	0	$(P/V)_3 C_3 RP_2$
27	1	1	1	$(P/V)_3 C_3 RP_3$

**Fuente:** Elaboración propia

En las proporciones que se detallan en la tabla II-20 se lleva a cabo el tinturado (Maceración) para determinar experimentalmente cuál de las hipótesis es cierta, y sobre todo analizar los efectos de las variables y niveles seleccionados.

La maceración se lleva a cabo en botellas de vidrio color ámbar de 600 cm<sup>3</sup> y se prolonga esta operación hasta que se distinguen tres capas claramente definidas; el material y equipo necesario para esta tarea se detalla a continuación:

### **Instrumental**

- Espátula.
- Vaso de precipitación de 300 ml.
- Botellas de vidrio color ámbar.
- Probetas de 100 ml y 250 ml.
- Pipeta de 10 ml.
- Alcoholímetro.
- Tapas corona de cierre hermético.
- Etiquetas.
- Filtro de café.
- Envases plásticos de 250 ml.
- Embudos.
- Papel filtro Whatman N° 40.
- Envases plásticos 125 ml.

### **❖ Equipos**

- Balanza analítica.
- Agitador eléctrico (shaker, Selecta.)
- Baño María.



- Filtro al vacío.
- Bomba de vacío

Durante el tiempo de maceración se realizan agitaciones diarias en agitador eléctrico por 30 minutos a una velocidad entre 190 y 195 revoluciones por minuto.

Una vez que se identifiquen las tres capas claramente, se procede a filtrar las mezclas con papel filtro para café, usando como ayuda un filtro al vacío como se muestra en la figura 2-14; en este paso se tuvo el inconveniente, que al realizarse en época de invierno surgieron problemas en el filtrado ya que por solidificación de ceras se detenía la filtración, por lo que se pusieron las muestras en baño maría como medida correctiva para poder filtrar las muestras para lo que se usó el baño maría del LOU (Laboratorio de operaciones Unitarias - UAJMS), como se muestra en la figura 2-15.

**Figura 2-13** Agitado de las muestras en Agitador eléctrico

Facilitado por el CEANID.



**Tabla II-20** Diseño factorial para la extracción alcohólica del propóleo.

#	PORCENTAJE DE PROPOLEO (P/V)		GRADO ALCOHOLICO (° Gay Lussac)	% DE RESINAS
1	10	%	70	30
2	10	%	70	40
3	10	%	70	50
4	25	%	70	30
5	25	%	70	40
6	25	%	70	50
7	50	%	70	30
8	50	%	70	40
9	50	%	70	50
10	10	%	80	30
11	10	%	80	40
12	10	%	80	50
13	25	%	80	30
14	25	%	80	40
15	25	%	80	50
16	50	%	80	30
17	50	%	80	40
18	50	%	80	50
19	10	%	96	30
20	10	%	96	40
21	10	%	96	50
22	25	%	96	30
23	25	%	96	40
24	25	%	96	50
25	50	%	96	30
26	50	%	96	40
27	50	%	96	50

**Fuente:** Elaboración propia; (Proporción: en % de propóleos y Grado alcohólico: en grados Gay Lussac)

Posterior al filtrado, se envasa el producto en envases plásticos de 250 ml, con cierre hermético como enseña la figura 2-16, para posteriormente someter los mismos a una temperatura de 0°C (figura 2-17), para pasar al acondicionamiento que es el segundo filtrado con papel Whatman N° 40, a una temperatura de 0°C, con la ayuda de una

bomba de vacío (figura 2- 18), para separar las ceras, como se muestra en la figura 2-19 y mejorar la turbidez del producto, que será sometido a ensayos de calidad.

Para tener una idea de las cantidades que los distintos insumos y materias primas, se elaboró la tabla II-20, en la cual se detallan cantidades de alcohol, agua destilada y propóleos, teniendo en cuenta las directrices de la tabla II-20, y el dato del volumen de solución que se preparará que está definido por la botella, 280 ml, de manera que exista espacio para el propóleos y para lograr una buena agitación.

**Tabla II-21** Cálculo de Materias primas para la ejecución del diseño factorial propuesto.

GRADO ALCOHOLICO (° Gay lussac)	% DE RESINAS	VOLUMEN DE SOLUCION ALCOHOLICA (ml)	VOLUMEN DE AGUA (ml)	VOLUMEN ALCOHOL (ml)	PESO PROPOLEOS (gr)
70	30	280	79,40	200,60	28,00
70	40	280	79,40	200,60	28,00
70	50	280	79,40	200,60	28,00
70	30	280	79,40	200,60	70,00
70	40	280	79,40	200,60	70,00
70	50	280	79,40	200,60	70,00
70	30	280	79,40	200,60	140,00
70	40	280	79,40	200,60	140,00
70	50	280	79,40	200,60	140,00
80	30	280	48,73	231,27	28,00
80	40	280	48,73	231,27	28,00
80	50	280	48,73	231,27	28,00
80	30	280	48,73	231,27	70,00
80	40	280	48,73	231,27	70,00
80	50	280	48,73	231,27	70,00
80	30	280	48,73	231,27	140,00
80	40	280	48,73	231,27	140,00
80	50	280	48,73	231,27	140,00
96	30	280	0,00	280,00	28,00
96	40	280	0,00	280,00	28,00
96	50	280	0,00	280,00	28,00
96	30	280	0,00	280,00	70,00
96	40	280	0,00	280,00	70,00
96	50	280	0,00	280,00	70,00
96	30	280	0,00	280,00	140,00
96	40	280	0,00	280,00	140,00
96	50	280	0,00	280,00	140,00
<b>TOTALES</b>		<b>7560</b>	<b>1153,20</b>	<b>6406,80</b>	<b>2142,00</b>

**Fuente:** Elaboración Propia.

**Figura 2-14** Filtrado al vacío de Tintura madre de propóleos



**Figura 2-15** Baño maría termostatzado.



**Figura 2-16** Tinturas envasadas después del filtrado



**Figura 2-17** Proceso de refrigeración de tintura de Propóleos para la extracción de ceras



**Figura 2-18** Filtrado al vacío para la extracción de ceras



**Figura 2-19** En la figura de la derecha, tinturas refrigeradas a 0 C, donde se distinguen claramente las ceras al fondo de los envases, a la derecha el rechazo del filtrado al vacío que son las ceras solidificadas.



Una vez filtrado, el resultado son tinturas con baja turbidez excelente presentación y una amplia gama de colores que vienen a responder tanto a las distintas concentraciones, como a los propóleos de los que provienen algunos de los productos; se muestran en las siguientes figuras:

**Figura 2-20** Algunas de las tinturas después del filtrado de ceras.



### **2.3.7. Análisis de la tintura madre de Propóleos**

Las técnicas de análisis con las que se analizó la tintura madre de propóleos fueron desarrolladas y puestas a punto en el laboratorio de agroindustrias de la estación experimental Agropecuaria INTA Famaillá, y son consideradas normas oficiales de IRAM-INTA 15935-1 Y 15935-2 y aplicables a propóleos bruto y extractos de propóleos.

Siendo en este caso adaptadas y puestas a punto para ensayos con las condiciones de nuestro departamento, en el laboratorio del CEANID, conjuntamente los técnicos especialistas de dicho laboratorio.

Se realizaron los análisis, de las 27 extracciones del diseño factorial, más dos muestras que servirán de referencia, una que es de las que se obtienen AARFFT que se denomina muestra 29, y otra que es considerada una de las mejores tinturas de Bolivia, de los laboratorios Loghman en Cochabamba que se denomina muestra 28.

**Figura 2-21** Muestra de referencia del laboratorio

Loghman en Cochabamba.



Los análisis que se efectúan sobre las distintas tinturas, son 3 y se detallan a continuación:

- Determinación de Extracto seco.
- Determinación del Índice de oxidación.
- Determinación del Espectrograma de absorción en el UV.

Los métodos de los ensayos se detallan a continuación:

#### **2.3.7.1. Determinación de extracto Seco.**

##### **❖ Instrumental**

Cajas petri.

Pipetas de 20 ml.

Desecadores.

Pinzas.

##### **❖ Equipos**

Balanza analítica.

Estufa.

Desecadores

##### **❖ Procedimiento**

En primer lugar se sometieron a secado a todas las cajas petri, a una temperatura de 105°C, por el tiempo de una hora. Posteriormente se enfriaron en desecador y se fueron pesando una por una registrando el peso e identificando cada uno con un número.

Después se colocan en cada una 20 ml del extracto de propóleos, se pesa en conjunto y se lleva a estufa a 80°C, para eliminar completamente el solvente. Luego se retira cristalizado, se coloca en un desecador hasta que alcance la temperatura ambiente, y



se pesa hasta constancia de peso, lo que se verifica cuando dos pesadas sucesivas no difieren entre sí en más de 5 mg.

❖ **Cálculos.-**

$$Es\% = \frac{(Pcs - Tc)}{20} * 100$$

**Siendo:**

Es%: Extracto seco expresado en g/100 ml.

Tc: Tara del cristizador.

Pcs: Peso del cristizador con el extracto seco

20: Volumen de muestra en ml.

$$Ren\% = \frac{(Pcs - Tc)}{20} * 100$$

**Siendo:**

Es%: Extracto seco expresado en g/100 ml.

Tc: Tara del cristizador.

Pcs: Peso del cristizador con el extracto seco

20: Volumen de muestra en ml.

**Tabla II-22** cantidad de extracto seco y rendimiento en la tintura madre de propóleos

#	PESO CRISTALIZAD OR (gr)	PESO CRISTALIZAD OR + 20 ml TINTURA (gr)	PESO TOTAL - CRISTALIZADO R (gr)	SECADO 1 5 HORAS	SECADO 2 +2HORAS	SECADO 3 +1,5 HORAS	DIFERENCIA SECADO 1 - SECADO 2	DIFERENCIA SECADO 2 - SECADO 3
1	35,8024	53,8636	18,0612	36,8385	36,8348	36,8345	0,0037	0,0003
2	34,5656	52,5852	18,0196	35,4187	35,4165	35,4164	0,0022	0,0001
3	34,5321	52,7026	18,1705	35,6889	35,6885	35,6884	0,0004	0,0001
4	34,5575	53,2903	18,7328	37,0385	37,0346	37,0340	0,0039	0,0006
5	34,5562	54,1501	19,5939	37,0622	37,0614	37,0611	0,0008	0,0003
6	35,0289	53,4703	18,4414	37,5751	37,5692	37,5690	0,0059	0,0002
7	35,7968	54,4586	18,6618	39,9909	39,9868	39,9866	0,0041	0,0002
8	35,9031	54,9428	19,0397	40,5467	40,4033	40,4013	0,1434	0,0020
9	35,8015	54,9350	19,1335	40,9089	40,8460	40,8421	0,0629	0,0039
10	34,7879	52,3682	17,5803	35,9118	35,9108	35,9106	0,0010	0,0002
11	49,9729	67,8690	17,8961	51,1926	51,1911	51,1906	0,0015	0,0005
12	51,1823	68,8788	17,6965	52,4995	52,4980	52,4977	0,0015	0,0003
13	36,7146	54,4630	17,7484	39,1212	39,1164	39,1162	0,0048	0,0002
14	49,7433	67,8837	18,1404	51,9878	51,9728	51,9707	0,0150	0,0021
15	43,9341	61,7368	17,8027	47,1183	47,1032	47,1027	0,0151	0,0005
16	38,1772	56,7762	18,5990	42,9977	42,9396	42,9368	0,0581	0,0028
17	51,4975	69,9361	18,4386	55,8460	55,8178	55,8166	0,0282	0,0012
18	105,2083	123,9859	18,7776	111,0658	111,0357	111,0344	0,0301	0,0013
19	108,127	124,9931	16,8661	109,1075	109,1020	109,1015	0,0055	0,0005
20	56,9028	73,5270	16,6242	58,1809	58,1745	58,1731	0,0064	0,0014
21	57,0709	73,9312	16,8603	58,3469	58,3456	58,3454	0,0013	0,0002
22	57,0899	73,9913	16,9014	59,5442	59,5250	59,5237	0,0192	0,0013
23	56,7735	73,7276	16,9541	59,1088	59,0964	59,0950	0,0124	0,0014
24	48,3585	65,4767	17,1182	51,4223	51,4120	51,4107	0,0103	0,0013
25	44,9192	62,7533	17,8341	49,6145	49,5578	49,5554	0,0567	0,0024
26	48,605	66,4087	17,8037	53,0260	52,9996	52,9964	0,0264	0,0032
27	47,5528	65,8894	18,3366	53,3670	53,3050	53,3013	0,0620	0,0037
28	42,0463	54,7826	12,7363	43,8581	43,8518	43,8502	0,0063	0,0016
29	36,6740	53,9876	17,3136	38,8320	38,8225	38,8192	0,0095	0,0033

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla II-23** Resultados obtenidos del ensayo de extracto seco y cálculo de rendimiento para las 27 muestras del diseño factorial y las dos muestras de referencia.

	P/V (%)	C (°GL)	RP (%)	EXTRACTO SECO g/100 ml	RENDIMIENTO
1	-1	-1	-1	5,161	5,714
2	-1	-1	0	4,254	4,722
3	-1	-1	1	5,782	6,364
4	0	-1	-1	12,383	13,220
5	0	-1	0	12,525	12,784
6	0	-1	1	12,701	13,774
7	1	-1	-1	20,949	22,451
8	1	-1	0	22,491	23,625
9	1	-1	1	25,203	26,344
10	-1	0	-1	5,614	6,386
11	-1	0	0	6,089	6,804
12	-1	0	1	6,577	7,433
13	0	0	-1	12,008	13,531
14	0	0	0	11,137	12,279
15	0	0	1	15,843	17,798
16	1	0	-1	23,798	25,591
17	1	0	0	21,596	23,424
18	1	0	1	29,131	31,027
19	-1	1	-1	4,873	5,778
20	-1	1	0	6,351	7,641
21	-1	1	1	6,372	7,559
22	0	1	-1	12,169	14,400
23	0	1	0	11,608	13,693
24	0	1	1	15,261	17,830
25	1	1	-1	23,181	25,996
26	1	1	0	21,957	24,666
27	1	1	1	28,743	31,350
28	Laboratorios Loghman			9,019	14,163
29	AARNFFT			10,726	12,390

Fuente: Elaboración propia

### **2.3.7.2. Determinación del Índice de Oxidación.**

Este ensayo es más un ensayo referido a la calidad de la tintura madre de propóleos, ya que es un ensayo cualitativo sobre la presencia de flavonoides y son estos los principales principios activos que necesitamos extraer del propóleos bruto

#### **❖ Instrumental**

Probeta de 100 ml

Erlenmeyer de 125 ml

Pipeta de 2 ml

Embudo de vidrio

Papel filtro

Tubos de ensayo

Cronómetro

#### **❖ Reactivos**

Ácido Sulfúrico al 20 %

Permanganato de Potasio 0,1 N

#### **❖ Procedimiento**

Se realizó en el laboratorio del CEANID, por método descrito por Bedascarrasbure, Maldonado, Morales y Fierro (2006). El mismo que dice:

La determinación se efectúa por duplicado.

Se colocan 100ml de agua para análisis en un Erlenmeyer de 125 ml. Se pipetea 2 ml de la muestra de extracto de propóleos y se agregan lentamente sobre el agua mientras se agita. Se filtra a través de un papel filtro y se recoge el filtrado en un vaso de precipitación o Erlenmeyer de volumen adecuado.

**Figura 2-18** Material y uno de los ensayos en proceso, para la determinación del índice de oxidación



Se colocan 2 ml del filtrado en un tubo de ensayo, se añade 1 ml de solución de ácido sulfúrico al 20%, y se agita durante un minuto.

**Figura 2-19** Muestras totalmente decoloradas después del ensayo de índice de oxidación



Finalmente, se agrega en el tubo 0,05 ml (una gota) de la solución de permanganato de potasio 0,1 N y se pone en marcha el cronómetro en el preciso momento en que la gota se pone en contacto con la solución acidulada de propóleos, agitando constantemente. La gota debe caer directamente sobre la solución y no sobre las paredes del tubo. Se registra el tiempo, en segundos, que la solución tarda en decolorarse.

Se expresa el resultado en segundos como el promedio de ambas determinaciones.

**Tabla II-24** Recopilación de los datos de Índice de oxidación realizado a las 27 combinaciones, más dos muestras de referencia, una la reserva de Tariquía y otra de laboratorios Loghman

#	TIEMPO EN SEGUNDOS DETERMINACIÓN 1	TIEMPO EN SEGUNDOS DETERMINACIÓN 2	PROMEDIO
1	3,69	3,41	3,55
2	2,40	2,66	2,53
3	2,46	2,40	2,43
4	1,70	2,17	1,94
5	2,15	2,41	2,28
6	2,12	2,03	2,08
7	1,96	2,14	2,05
8	2,21	2,32	2,27
9	2,40	2,61	2,51
10	2,20	2,31	2,26
11	2,01	2,15	2,08
12	2,18	2,41	2,30
13	2,36	2,08	2,22
14	2,40	2,51	2,46
15	2,30	2,02	2,16
16	2,23	2,12	2,18
17	2,19	2,33	2,26
18	2,31	2,40	2,36
19	2,20	2,26	2,23
20	2,32	2,13	2,23
21	2,14	2,28	2,21
22	2,27	2,36	2,32
23	2,18	2,29	2,24
24	2,32	2,37	2,35
25	2,13	2,14	2,13
26	2,50	2,32	2,41
27	2,65	2,06	2,36
28	2,46	2,08	2,27
29	2,19	2,13	2,16

**Fuente:** Elaboración propia

### **2.3.7.3. Determinación del espectrograma de absorción en el UV**

Este es un ensayo de control de calidad, que nos da una respuesta cualitativa sobre la presencia de compuestos fenólicos, cuando los valores de absorbancia registran un máximo entre 270 nm y 315 nm.

#### **Instrumental**

Aforados de 25, 50 y 10

Micro pipetas

Cubetas de cuarzo

Se efectúa una dilución de la muestra de 1 en 10.000 con alcohol etílico y se prosigue como se indica a continuación.

Se lee la absorbancia a 290 nm (zona en la que muchos tipos de propóleos tienen un máximo de absorbancia), y si este valor se encuentra entre 0,5 y 1 unidades de absorbancia, se efectúa el barrido completo de longitudes de onda, a intervalos de 2 – 10 nm, desde 240nm hasta 420 nm. En las zonas en las que haya un posible máximo de absorbancia, se efectúa un barrido más fino, de 2 en 2 nm.

Si la absorbancia medida inicialmente a 290 nm es mayor de 1 o menor de 0,5 unidades de absorbancia, se debe corregir la dilución efectuada inicialmente.

Se grafican los valores de absorbancia medidos en función de la longitud de onda de la radiación. La presencia de compuestos fenólicos resulta positiva si se registra un máximo de absorbancia entre 270 nm y 315nm.

#### **Resultados:**

Durante los ensayos se fueron registrando todos los datos obtenidos, con el barrido espectral el cual nos muestra los resultados de absorbancia para las longitudes de onda a intervalos de cada 2 nm; dichos registros de datos se detallan a continuación, además, en los mismos formularios se anotó la dilución a la que se llevó adelante el barrido espectral.

**Tabla II-25** Datos de barrido espectral de las muestras 1,2 y 3.

FORMULARIO PARA TOMA DE DATOS ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN EN EL UV DE TINTURA MADRE DE PROPOLEOS											
MUESTRA	1			MUESTRA	2			MUESTRA	3		
DILUCIÓN	1/1250			DILUCIÓN	1/1250			DILUCIÓN	1/1250		
240	0,102	332	0,449	240	0,090	332	0,343	240	0,100	332	0,387
242	0,103	334	0,425	242	0,075	334	0,331	242	0,083	334	0,374
244	0,096	336	0,397	244	0,089	336	0,318	244	0,115	336	0,359
246	0,088	338	0,370	246	0,104	338	0,300	246	0,084	338	0,340
248	0,100	340	0,339	248	0,111	340	0,283	248	0,084	340	0,321
250	0,100	342	0,309	250	0,088	342	0,262	250	0,100	342	0,297
252	0,126	344	0,279	252	0,099	344	0,241	252	0,127	344	0,273
254	0,106	346	0,253	254	0,117	346	0,220	254	0,122	346	0,251
256	0,108	348	0,225	256	0,097	348	0,198	256	0,091	348	0,225
258	0,118	350	0,201	258	0,098	350	0,180	258	0,099	350	0,205
260	0,140	352	0,181	260	0,122	352	0,160	260	0,133	352	0,185
262	0,128	354	0,163	262	0,114	354	0,142	262	0,126	354	0,161
264	0,125	356	0,146	264	0,119	356	0,123	264	0,132	356	0,141
266	0,148	358	0,129	266	0,133	358	0,105	266	0,163	358	0,121
268	0,176	360	0,116	268	0,170	360	0,092	268	0,198	360	0,166
270	0,234	362	0,105	270	0,280	362	0,083	270	0,278	362	0,096
272	0,337	364	0,098	272	0,390	364	0,072	272	0,407	364	0,083
274	0,421	366	0,091	274	0,468	366	0,063	274	0,516	366	0,074
276	0,469	368	0,082	276	0,528	368	0,058	276	0,585	368	0,066
278	0,511	370	0,074	278	0,564	370	0,049	278	0,631	370	0,057
280	0,544	372	0,068	280	0,576	372	0,044	280	0,648	372	0,050
282	0,569	374	0,064	282	0,579	374	0,041	282	0,656	374	0,045
284	0,589	376	0,064	284	0,571	376	0,037	284	0,649	376	0,041
286	0,603	378	0,057	286	0,558	378	0,031	286	0,633	378	0,037
288	0,615	380	0,051	288	0,540	380	0,033	288	0,611	380	0,033
290	0,626	382	0,048	290	0,516	382	0,028	290	0,582	382	0,031
292	0,633	384	0,044	292	0,489	384	0,026	292	0,548	384	0,028
294	0,640	386	0,040	294	0,468	386	0,024	294	0,522	386	0,026
296	0,646	388	0,036	296	0,454	388	0,023	296	0,506	388	0,024
298	0,652	390	0,031	298	0,446	390	0,021	298	0,498	390	0,021
300	0,656	392	0,027	300	0,442	392	0,019	300	0,493	392	0,019
302	0,511	394	0,024	302	0,370	394	0,018	302	0,408	394	0,018
304	0,519	396	0,021	304	0,369	396	0,017	304	0,409	396	0,016
306	0,521	398	0,017	306	0,369	398	0,016	306	0,409	398	0,015
308	0,529	400	0,015	308	0,369	400	0,014	308	0,412	400	0,013
310	0,535	402	0,012	310	0,372	402	0,014	310	0,413	402	0,012
312	0,540	404	0,011	312	0,373	404	0,013	312	0,421	404	0,011
314	0,541	406	0,009	314	0,377	406	0,012	314	0,423	406	0,010
316	0,540	408	0,008	316	0,376	408	0,011	316	0,425	408	0,009
318	0,540	410	0,007	318	0,372	410	0,011	318	0,424	410	0,008
320	0,536	412	0,006	320	0,370	412	0,010	320	0,425	412	0,008
322	0,533	414	0,005	322	0,300	414	0,009	322	0,423	414	0,007
324	0,522	416	0,004	324	0,318	416	0,009	324	0,421	416	0,007
326	0,505	418	0,004	326	0,331	418	0,009	326	0,414	418	0,006
328	0,488	420	0,003	328	0,343	420	0,008	328	0,406	420	0,006
330	0,471			330	0,331			330	0,398		

**Fuente:** Elaboración propia



**Tabla II-26** Datos de barrido espectral de las muestras 4,5 y 6.

FORMULARIO PARA TOMA DE DATOS ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN EN EL UV DE TINTURA MADRE DE PROPOLEOS											
MUESTRA		4		MUESTRA		5		MUESTRA		6	
DILUCIÓN		1/3125		DILUCIÓN		1/1225		DILUCIÓN		1/1250	
240	0,115	332	0,653	240	0,102	332	0,480	240	0,102	332	0,480
242	0,111	334	0,620	242	0,092	334	0,465	242	0,092	334	0,465
244	0,112	336	0,584	244	0,107	336	0,446	244	0,107	336	0,446
246	0,100	338	0,547	246	0,104	338	0,426	246	0,104	338	0,426
248	0,152	340	0,441	248	0,117	340	0,401	248	0,117	340	0,401
250	0,141	342	0,461	250	0,113	342	0,372	250	0,113	342	0,372
252	0,160	344	0,419	252	0,120	344	0,343	252	0,120	344	0,343
254	0,156	346	0,376	254	0,128	346	0,313	254	0,128	346	0,313
256	0,172	348	0,341	256	0,132	348	0,285	256	0,132	348	0,285
258	0,181	350	0,310	258	0,134	350	0,258	258	0,134	350	0,258
260	0,178	352	0,277	260	0,129	352	0,232	260	0,129	352	0,232
262	0,203	354	0,248	262	0,158	354	0,203	262	0,158	354	0,203
264	0,191	356	0,220	264	0,134	356	0,177	264	0,134	356	0,177
266	0,238	358	0,193	266	0,183	358	0,153	266	0,183	358	0,153
268	0,270	360	0,175	268	0,229	360	0,135	268	0,229	360	0,135
270	0,351	362	0,158	270	0,340	362	0,118	270	0,340	362	0,118
272	0,505	364	0,146	272	0,517	364	0,116	272	0,517	364	0,116
274	0,604	366	0,132	274	0,655	366	0,093	274	0,655	366	0,093
276	0,690	368	0,121	276	0,747	368	0,082	276	0,747	368	0,082
278	0,749	370	0,111	278	0,803	370	0,073	278	0,803	370	0,073
280	0,792	372	0,102	280	0,834	372	0,066	280	0,834	372	0,066
282	0,826	374	0,094	282	0,835	374	0,061	282	0,835	374	0,061
284	0,856	376	0,088	284	0,833	376	0,055	284	0,833	376	0,055
286	0,880	378	0,080	286	0,812	378	0,049	286	0,812	378	0,049
288	0,899	380	0,077	288	0,782	380	0,053	288	0,782	380	0,053
290	0,912	382	0,072	290	0,753	382	0,042	290	0,753	382	0,042
292	0,923	384	0,066	292	0,713	384	0,039	292	0,713	384	0,039
294	0,934	386	0,060	294	0,682	386	0,037	294	0,682	386	0,037
296	0,944	388	0,054	296	0,662	388	0,034	296	0,662	388	0,034
298	0,952	390	0,048	298	0,651	390	0,032	298	0,651	390	0,032
300	0,958	392	0,046	300	0,643	392	0,029	300	0,643	392	0,029
302	0,712	394	0,037	302	0,515	394	0,028	302	0,515	394	0,028
304	0,723	396	0,032	304	0,517	396	0,026	304	0,517	396	0,026
306	0,733	398	0,027	306	0,516	398	0,024	306	0,516	398	0,024
308	0,739	400	0,023	308	0,514	400	0,022	308	0,514	400	0,022
310	0,749	402	0,020	310	0,518	402	0,021	310	0,518	402	0,021
312	0,755	404	0,017	312	0,521	404	0,020	312	0,521	404	0,020
314	0,758	406	0,015	314	0,524	406	0,019	314	0,524	406	0,019
316	0,761	408	0,013	316	0,527	408	0,018	316	0,527	408	0,018
318	0,765	410	0,012	318	0,526	410	0,016	318	0,526	410	0,016
320	0,758	412	0,010	320	0,526	412	0,016	320	0,526	412	0,016
322	0,753	414	0,009	322	0,520	414	0,014	322	0,520	414	0,014
324	0,741	416	0,008	324	0,517	416	0,014	324	0,517	416	0,014
326	0,725	418	0,007	326	0,512	418	0,013	326	0,512	418	0,013
328	0,703	420	0,006	328	0,503	420	0,013	328	0,503	420	0,013
330	0,679			330	0,493			330	0,493		

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla II-27** Datos de barrido espectral de las muestras 7,8 y 9.

FORMULARIO PARA TOMA DE DATOS ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN EN EL UV DE TINTURA MADRE DE PROPOLEOS											
MUESTRA		7		MUESTRA		8		MUESTRA		9	
DILUCIÓN		1/3125		DILUCIÓN		1/1125		DILUCIÓN		1/4166	
240	0,108	332	0,632	240	0,119	332	0,541	240	0,126	332	0,562
242	0,109	334	0,599	242	0,090	334	0,529	242	0,092	334	0,550
244	0,104	336	0,563	244	0,109	336	0,511	244	0,117	336	0,532
246	0,039	338	0,526	246	0,055	338	0,485	246	0,116	338	0,506
248	0,091	340	0,420	248	0,059	340	0,462	248	0,120	340	0,483
250	0,080	342	0,440	250	0,053	342	0,431	250	0,114	342	0,452
252	0,099	344	0,398	252	0,082	344	0,398	252	0,143	344	0,419
254	0,095	346	0,355	254	0,051	346	0,367	254	0,112	346	0,388
256	0,111	348	0,320	256	0,080	348	0,332	256	0,141	348	0,353
258	0,160	350	0,289	258	0,131	350	0,306	258	0,152	350	0,327
260	0,157	352	0,256	260	0,122	352	0,271	260	0,143	352	0,292
262	0,182	354	0,227	262	0,151	354	0,242	262	0,172	354	0,263
264	0,170	356	0,199	264	0,139	356	0,210	264	0,160	356	0,231
266	0,217	358	0,172	266	0,170	358	0,180	266	0,191	358	0,201
268	0,249	360	0,154	268	0,191	360	0,158	268	0,212	360	0,179
270	0,330	362	0,137	270	0,286	362	0,136	270	0,307	362	0,157
272	0,484	364	0,125	272	0,502	364	0,121	272	0,523	364	0,142
274	0,583	366	0,128	274	0,663	366	0,119	274	0,684	366	0,123
276	0,669	368	0,117	276	0,788	368	0,105	276	0,809	368	0,109
278	0,728	370	0,107	278	0,891	370	0,095	278	0,912	370	0,099
280	0,771	372	0,098	280	0,948	372	0,083	280	0,969	372	0,087
282	0,805	374	0,090	282	0,970	374	0,073	282	0,991	374	0,077
284	0,835	376	0,084	284	0,969	376	0,068	284	0,990	376	0,072
286	0,859	378	0,076	286	0,949	378	0,057	286	0,970	378	0,061
288	0,878	380	0,073	288	0,919	380	0,053	288	0,940	380	0,057
290	0,891	382	0,068	290	0,824	382	0,050	290	0,845	382	0,054
292	0,902	384	0,062	292	0,821	384	0,045	292	0,842	384	0,049
294	0,913	386	0,056	294	0,780	386	0,041	294	0,801	386	0,045
296	0,923	388	0,050	296	0,754	388	0,037	296	0,775	388	0,041
298	0,931	390	0,044	298	0,741	390	0,034	298	0,762	390	0,038
300	0,937	392	0,042	300	0,735	392	0,030	300	0,756	392	0,034
302	0,691	394	0,033	302	0,557	394	0,028	302	0,578	394	0,032
304	0,702	396	0,028	304	0,565	396	0,025	304	0,586	396	0,029
306	0,712	398	0,023	306	0,565	398	0,022	306	0,586	398	0,026
308	0,718	400	0,019	308	0,566	400	0,019	308	0,587	400	0,023
310	0,728	402	0,016	310	0,570	402	0,017	310	0,591	402	0,021
312	0,734	404	0,013	312	0,576	404	0,015	312	0,597	404	0,019
314	0,737	406	0,011	314	0,579	406	0,014	314	0,600	406	0,018
316	0,740	408	0,009	316	0,583	408	0,012	316	0,604	408	0,016
318	0,744	410	0,008	318	0,587	410	0,011	318	0,608	410	0,015
320	0,737	412	0,006	320	0,583	412	0,009	320	0,604	412	0,013
322	0,732	414	0,005	322	0,583	414	0,008	322	0,604	414	0,012
324	0,720	416	0,004	324	0,573	416	0,007	324	0,594	416	0,011
326	0,704	418	0,003	326	0,576	418	0,006	326	0,597	418	0,010
328	0,682	420	0,002	328	0,566	420	0,006	328	0,587	420	0,010
330	0,658			330	0,556			330	0,577		

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla II-28** Datos de barrido espectral de las muestras 10,11y 12.

FORMULARIO PARA TOMA DE DATOS ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN EN EL UV DE TINTURA MADRE DE PROPOLEOS											
MUESTRA	10			MUESTRA	11			MUESTRA	12		
DILUCIÓN	1/2500			DILUCIÓN	1/2500			DILUCIÓN	1/2500		
240	0,095	332	0,428	240	0,086	332	0,323	240	0,093	332	0,344
242	0,101	334	0,404	242	0,051	334	0,319	242	0,053	334	0,340
244	0,088	336	0,376	244	0,085	336	0,307	244	0,093	336	0,328
246	0,027	338	0,349	246	0,014	338	0,291	246	0,075	338	0,312
248	0,039	340	0,318	248	0,030	340	0,277	248	0,091	340	0,298
250	0,039	342	0,288	250	0,008	342	0,257	250	0,069	342	0,278
252	0,065	344	0,258	252	0,034	344	0,238	252	0,095	344	0,259
254	0,045	346	0,232	254	0,016	346	0,218	254	0,077	346	0,239
256	0,047	348	0,204	256	0,039	348	0,196	256	0,100	348	0,217
258	0,097	350	0,180	258	0,088	350	0,179	258	0,109	350	0,200
260	0,119	352	0,160	260	0,069	352	0,158	260	0,090	352	0,179
262	0,107	354	0,142	262	0,106	354	0,140	262	0,127	354	0,161
264	0,104	356	0,125	264	0,077	356	0,120	264	0,098	356	0,141
266	0,127	358	0,108	266	0,122	358	0,104	266	0,143	358	0,125
268	0,155	360	0,095	268	0,129	360	0,087	268	0,150	360	0,108
270	0,213	362	0,084	270	0,208	362	0,078	270	0,229	362	0,099
272	0,316	364	0,077	272	0,343	364	0,067	272	0,364	364	0,088
274	0,400	366	0,087	274	0,423	366	0,072	274	0,444	366	0,076
276	0,448	368	0,078	276	0,499	368	0,065	276	0,520	368	0,069
278	0,490	370	0,070	278	0,544	370	0,057	278	0,565	370	0,061
280	0,523	372	0,064	280	0,569	372	0,051	280	0,590	372	0,055
282	0,548	374	0,060	282	0,582	374	0,042	282	0,603	374	0,046
284	0,568	376	0,060	284	0,576	376	0,039	284	0,597	376	0,043
286	0,582	378	0,053	286	0,566	378	0,036	286	0,587	378	0,040
288	0,594	380	0,047	288	0,545	380	0,033	288	0,566	380	0,037
290	0,605	382	0,044	290	0,515	382	0,029	290	0,536	382	0,033
292	0,612	384	0,040	292	0,482	384	0,027	292	0,503	384	0,031
294	0,619	386	0,036	294	0,456	386	0,024	294	0,477	386	0,028
296	0,625	388	0,032	296	0,440	388	0,022	296	0,461	388	0,026
298	0,631	390	0,027	298	0,431	390	0,020	298	0,452	390	0,024
300	0,635	392	0,023	300	0,427	392	0,017	300	0,448	392	0,021
302	0,490	394	0,020	302	0,348	394	0,015	302	0,369	394	0,019
304	0,498	396	0,017	304	0,350	396	0,013	304	0,371	396	0,017
306	0,500	398	0,013	306	0,348	398	0,011	306	0,369	398	0,015
308	0,508	400	0,011	308	0,357	400	0,010	308	0,378	400	0,014
310	0,514	402	0,008	310	0,357	402	0,009	310	0,378	402	0,013
312	0,519	404	0,007	312	0,352	404	0,008	312	0,373	404	0,012
314	0,520	406	0,005	314	0,357	406	0,007	314	0,378	406	0,011
316	0,519	408	0,004	316	0,353	408	0,006	316	0,374	408	0,010
318	0,519	410	0,003	318	0,357	410	0,005	318	0,378	410	0,009
320	0,515	412	0,002	320	0,355	412	0,004	320	0,376	412	0,008
322	0,512	414	0,001	322	0,353	414	0,003	322	0,374	414	0,007
324	0,501	416	0,000	324	0,353	416	0,003	324	0,374	416	0,007
326	0,484	418	0,000	326	0,348	418	0,002	326	0,369	418	0,006
328	0,467	420	0,000	328	0,343	420	0,002	328	0,364	420	0,006
330	0,450			330	0,337		-0,004	330	0,358		

Fuente: Elaboración propia

**Tabla II-29** Datos de barrido espectral de las muestras 13,14y 15.

FORMULARIO PARA TOMA DE DATOS ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN EN EL UV DE TINTURA MADRE DE PROPOLEOS											
MUESTRA		13		MUESTRA		14		MUESTRA		15	
DILUCIÓN		1/4166		DILUCIÓN		1/2083		DILUCIÓN		1/3571	
240	0,117	332	0,477	240	0,094	332	0,359	240	0,079	332	0,331
242	0,112	334	0,453	242	0,076	334	0,349	242	0,067	334	0,321
244	0,111	336	0,425	244	0,106	336	0,339	244	0,091	336	0,311
246	0,156	338	0,398	246	0,139	338	0,324	246	0,071	338	0,296
248	0,168	340	0,367	248	0,150	340	0,311	248	0,082	340	0,283
250	0,168	342	0,337	250	0,151	342	0,291	250	0,083	342	0,263
252	0,194	344	0,307	252	0,152	344	0,273	252	0,084	344	0,245
254	0,174	346	0,281	254	0,147	346	0,255	254	0,079	346	0,227
256	0,176	348	0,253	256	0,166	348	0,235	256	0,098	348	0,207
258	0,146	350	0,229	258	0,120	350	0,217	258	0,092	350	0,189
260	0,168	352	0,209	260	0,136	352	0,198	260	0,108	352	0,170
262	0,156	354	0,191	262	0,124	354	0,180	262	0,096	354	0,152
264	0,153	356	0,174	264	0,142	356	0,163	264	0,114	356	0,135
266	0,176	358	0,157	266	0,133	358	0,145	266	0,105	358	0,117
268	0,204	360	0,144	268	0,174	360	0,132	268	0,146	360	0,104
270	0,262	362	0,133	270	0,257	362	0,120	270	0,229	362	0,092
272	0,365	364	0,126	272	0,355	364	0,112	272	0,327	364	0,084
274	0,449	366	0,102	274	0,445	366	0,082	274	0,417	366	0,071
276	0,497	368	0,093	276	0,503	368	0,076	276	0,475	368	0,065
278	0,539	370	0,085	278	0,551	370	0,068	278	0,523	370	0,057
280	0,572	372	0,079	280	0,575	372	0,063	280	0,547	372	0,052
282	0,597	374	0,075	282	0,587	374	0,053	282	0,559	374	0,042
284	0,617	376	0,075	284	0,583	376	0,054	284	0,555	376	0,043
286	0,631	378	0,068	286	0,584	378	0,046	286	0,556	378	0,035
288	0,643	380	0,062	288	0,555	380	0,046	288	0,527	380	0,035
290	0,654	382	0,059	290	0,528	382	0,044	290	0,500	382	0,033
292	0,661	384	0,055	292	0,497	384	0,041	292	0,469	384	0,030
294	0,668	386	0,051	294	0,473	386	0,037	294	0,445	386	0,026
296	0,674	388	0,047	296	0,458	388	0,035	296	0,430	388	0,024
298	0,680	390	0,042	298	0,451	390	0,033	298	0,423	390	0,022
300	0,684	392	0,038	300	0,447	392	0,031	300	0,419	392	0,020
302	0,539	394	0,035	302	0,378	394	0,028	302	0,350	394	0,017
304	0,547	396	0,032	304	0,377	396	0,026	304	0,349	396	0,015
306	0,549	398	0,028	306	0,379	398	0,025	306	0,351	398	0,014
308	0,557	400	0,026	308	0,376	400	0,024	308	0,348	400	0,013
310	0,563	402	0,023	310	0,380	402	0,023	310	0,352	402	0,012
312	0,568	404	0,022	312	0,380	404	0,022	312	0,352	404	0,011
314	0,569	406	0,020	314	0,384	406	0,021	314	0,356	406	0,010
316	0,568	408	0,019	316	0,386	408	0,020	316	0,358	408	0,009
318	0,568	410	0,018	318	0,384	410	0,019	318	0,356	410	0,008
320	0,564	412	0,017	320	0,384	412	0,019	320	0,356	412	0,008
322	0,561	414	0,016	322	0,382	414	0,018	322	0,354	414	0,007
324	0,550	416	0,015	324	0,381	416	0,018	324	0,353	416	0,007
326	0,533	418	0,015	326	0,377	418	0,017	326	0,349	418	0,006
328	0,516	420	0,014	328	0,373	420	0,016	328	0,345	420	0,005
330	0,499			330	0,366		0,000	330	0,338		

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla II-30** Datos de barrido espectral de las muestras 16,17 y 18.

FORMULARIO PARA TOMA DE DATOS ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN EN EL UV DE TINTURA MADRE DE PROPOLEOS											
MUESTRA		16		MUESTRA		17		MUESTRA		18	
DILUCIÓN		1/5000		DILUCIÓN		1/6250		DILUCIÓN		1/6250	
240	0,130	332	0,681	240	0,121	332	0,437	240	0,106	332	0,409
242	0,120	334	0,648	242	0,084	334	0,423	242	0,075	334	0,395
244	0,127	336	0,612	244	0,125	336	0,412	244	0,110	336	0,384
246	0,168	338	0,575	246	0,148	338	0,392	246	0,080	338	0,364
248	0,220	340	0,469	248	0,169	340	0,375	248	0,101	340	0,347
250	0,209	342	0,489	250	0,158	342	0,352	250	0,090	342	0,324
252	0,228	344	0,447	252	0,184	344	0,330	252	0,116	344	0,302
254	0,224	346	0,404	254	0,158	346	0,308	254	0,090	346	0,280
256	0,240	348	0,369	256	0,186	348	0,283	256	0,118	348	0,255
258	0,209	350	0,338	258	0,145	350	0,261	258	0,117	350	0,233
260	0,206	352	0,305	260	0,152	352	0,239	260	0,124	352	0,211
262	0,231	354	0,276	262	0,149	354	0,216	262	0,121	354	0,188
264	0,219	356	0,248	264	0,162	356	0,194	264	0,134	356	0,166
266	0,266	358	0,221	266	0,169	358	0,173	266	0,141	358	0,145
268	0,298	360	0,203	268	0,205	360	0,157	268	0,177	360	0,129
270	0,379	362	0,186	270	0,284	362	0,142	270	0,256	362	0,114
272	0,533	364	0,174	272	0,425	364	0,132	272	0,397	364	0,104
274	0,632	366	0,143	274	0,534	366	0,101	274	0,506	366	0,090
276	0,718	368	0,132	276	0,627	368	0,092	276	0,599	368	0,081
278	0,777	370	0,122	278	0,691	370	0,083	278	0,663	370	0,072
280	0,820	372	0,113	280	0,726	372	0,076	280	0,698	372	0,065
282	0,854	374	0,105	282	0,737	374	0,065	282	0,709	374	0,054
284	0,884	376	0,099	284	0,735	376	0,065	284	0,707	376	0,054
286	0,908	378	0,091	286	0,719	378	0,054	286	0,691	378	0,043
288	0,927	380	0,088	288	0,698	380	0,054	288	0,670	380	0,043
290	0,940	382	0,083	290	0,663	382	0,050	290	0,635	382	0,039
292	0,951	384	0,077	292	0,624	384	0,047	292	0,596	384	0,036
294	0,962	386	0,071	294	0,594	386	0,044	294	0,566	386	0,033
296	0,972	388	0,065	296	0,576	388	0,041	296	0,548	388	0,030
298	0,980	390	0,059	298	0,566	390	0,039	298	0,538	390	0,028
300	0,986	392	0,057	300	0,561	392	0,036	300	0,533	392	0,025
302	0,740	394	0,048	302	0,462	394	0,034	302	0,434	394	0,023
304	0,751	396	0,043	304	0,461	396	0,032	304	0,433	396	0,021
306	0,761	398	0,038	306	0,465	398	0,030	306	0,437	398	0,019
308	0,767	400	0,034	308	0,463	400	0,028	308	0,435	400	0,017
310	0,777	402	0,031	310	0,465	402	0,026	310	0,437	402	0,015
312	0,783	404	0,028	312	0,465	404	0,025	312	0,437	404	0,014
314	0,786	406	0,026	314	0,469	406	0,024	314	0,441	406	0,013
316	0,789	408	0,024	316	0,470	408	0,023	316	0,442	408	0,012
318	0,793	410	0,023	318	0,470	410	0,022	318	0,442	410	0,011
320	0,786	412	0,021	320	0,467	412	0,021	320	0,439	412	0,010
322	0,781	414	0,020	322	0,467	414	0,020	322	0,439	414	0,009
324	0,769	416	0,019	324	0,464	416	0,019	324	0,436	416	0,008
326	0,753	418	0,018	326	0,458	418	0,018	326	0,430	418	0,007
328	0,731	420	0,017	328	0,453	420	0,018	328	0,425	420	0,007
330	0,707			330	0,443			330	0,415		

**Fuente:** Elaboración propia.

**Tabla II-31** Datos de barrido espectral de las muestras 19,20 y 21.

FORMULARIO PARA TOMA DE DATOS ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN EN EL UV DE TINTURA MADRE DE PROPOLEOS											
MUESTRA	19			MUESTRA	20			MUESTRA	21		
DILUCIÓN	1/1250			DILUCIÓN	1/1250			DILUCIÓN	1/1250		
240	0,102	332	0,449	240	0,076	332	0,387	240	0,090	332	0,415
242	0,103	334	0,425	242	0,080	334	0,377	242	0,089	334	0,405
244	0,096	336	0,397	244	0,072	336	0,363	244	0,087	336	0,391
246	0,088	338	0,370	246	0,028	338	0,346	246	0,096	338	0,374
248	0,100	340	0,339	248	0,037	340	0,327	248	0,105	340	0,355
250	0,100	342	0,309	250	0,012	342	0,304	250	0,080	342	0,332
252	0,126	344	0,279	252	0,031	344	0,280	252	0,099	344	0,308
254	0,106	346	0,253	254	0,043	346	0,259	254	0,111	346	0,287
256	0,108	348	0,225	256	0,031	348	0,233	256	0,099	348	0,261
258	0,118	350	0,201	258	0,083	350	0,210	258	0,111	350	0,238
260	0,140	352	0,181	260	0,087	352	0,186	260	0,115	352	0,214
262	0,128	354	0,163	262	0,103	354	0,164	262	0,131	354	0,192
264	0,125	356	0,146	264	0,112	356	0,141	264	0,140	356	0,169
266	0,148	358	0,129	266	0,111	358	0,120	266	0,139	358	0,148
268	0,176	360	0,116	268	0,169	360	0,102	268	0,197	360	0,130
270	0,234	362	0,105	270	0,235	362	0,088	270	0,263	362	0,116
272	0,337	364	0,098	272	0,377	364	0,076	272	0,405	364	0,104
274	0,421	366	0,091	274	0,500	366	0,080	274	0,528	366	0,091
276	0,469	368	0,082	276	0,575	368	0,069	276	0,603	368	0,080
278	0,511	370	0,074	278	0,649	370	0,061	278	0,677	370	0,072
280	0,544	372	0,068	280	0,681	372	0,054	280	0,709	372	0,065
282	0,569	374	0,064	282	0,695	374	0,045	282	0,723	374	0,056
284	0,589	376	0,064	284	0,692	376	0,037	284	0,720	376	0,048
286	0,603	378	0,057	286	0,677	378	0,035	286	0,705	378	0,046
288	0,615	380	0,051	288	0,653	380	0,032	288	0,681	380	0,043
290	0,626	382	0,048	290	0,618	382	0,027	290	0,646	382	0,038
292	0,633	384	0,044	292	0,579	384	0,022	292	0,607	384	0,033
294	0,640	386	0,040	294	0,548	386	0,017	294	0,576	386	0,028
296	0,646	388	0,036	296	0,529	388	0,015	296	0,557	388	0,026
298	0,652	390	0,031	298	0,520	390	0,015	298	0,548	390	0,026
300	0,656	392	0,027	300	0,514	392	0,012	300	0,542	392	0,023
302	0,511	394	0,031	302	0,412	394	0,016	302	0,440	394	0,020
304	0,519	396	0,028	304	0,412	396	0,013	304	0,440	396	0,017
306	0,521	398	0,024	306	0,413	398	0,012	306	0,441	398	0,016
308	0,529	400	0,022	308	0,412	400	0,011	308	0,440	400	0,015
310	0,535	402	0,019	310	0,415	402	0,009	310	0,443	402	0,013
312	0,540	404	0,018	312	0,416	404	0,008	312	0,444	404	0,012
314	0,541	406	0,016	314	0,421	406	0,007	314	0,449	406	0,011
316	0,540	408	0,015	316	0,419	408	0,006	316	0,447	408	0,010
318	0,540	410	0,014	318	0,420	410	0,005	318	0,448	410	0,009
320	0,536	412	0,013	320	0,419	412	0,004	320	0,447	412	0,008
322	0,533	414	0,012	322	0,418	414	0,004	322	0,446	414	0,008
324	0,522	416	0,011	324	0,416	416	0,003	324	0,444	416	0,007
326	0,505	418	0,011	326	0,410	418	0,002	326	0,438	418	0,006
328	0,488	420	0,010	328	0,407	420	0,001	328	0,435	420	0,005
330	0,471			330	0,397			330	0,425		

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla II-32** Datos de barrido espectral de las muestras 22,23 y 24.

FORMULARIO PARA TOMA DE DATOS ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN EN EL UV DE TINTURA MADRE DE PROPOLEOS											
MUESTRA	22			MUESTRA	23			MUESTRA	24		
DILUCIÓN	1/3125			DILUCIÓN	1/3125			DILUCIÓN	1/3125		
240	0,110	332	0,470	240	0,097	332	0,419	240	0,104	332	0,440
242	0,105	334	0,446	242	0,075	334	0,407	242	0,077	334	0,428
244	0,104	336	0,418	244	0,098	336	0,393	244	0,106	336	0,414
246	0,149	338	0,391	246	0,041	338	0,374	246	0,102	338	0,395
248	0,161	340	0,360	248	0,027	340	0,354	248	0,088	340	0,375
250	0,161	342	0,330	250	0,040	342	0,333	250	0,101	342	0,354
252	0,187	344	0,300	252	0,064	344	0,306	252	0,125	344	0,327
254	0,167	346	0,274	254	0,041	346	0,281	254	0,102	346	0,302
256	0,169	348	0,246	256	0,075	348	0,255	256	0,136	348	0,276
258	0,139	350	0,222	258	0,077	350	0,232	258	0,098	350	0,253
260	0,161	352	0,202	260	0,101	352	0,206	260	0,122	352	0,227
262	0,149	354	0,184	262	0,116	354	0,183	262	0,137	354	0,204
264	0,146	356	0,167	264	0,113	356	0,159	264	0,134	356	0,180
266	0,169	358	0,150	266	0,144	358	0,136	266	0,165	358	0,157
268	0,197	360	0,137	268	0,140	360	0,118	268	0,161	360	0,139
270	0,255	362	0,126	270	0,269	362	0,102	270	0,290	362	0,123
272	0,358	364	0,119	272	0,403	364	0,089	272	0,424	364	0,110
274	0,442	366	0,095	274	0,525	366	0,092	274	0,546	366	0,096
276	0,490	368	0,086	276	0,635	368	0,081	276	0,656	368	0,085
278	0,532	370	0,078	278	0,693	370	0,072	278	0,714	370	0,076
280	0,565	372	0,072	280	0,740	372	0,066	280	0,761	372	0,070
282	0,590	374	0,068	282	0,751	374	0,058	282	0,772	374	0,062
284	0,610	376	0,068	284	0,749	376	0,051	284	0,770	376	0,055
286	0,624	378	0,061	286	0,735	378	0,046	286	0,756	378	0,050
288	0,636	380	0,055	288	0,708	380	0,041	288	0,729	380	0,045
290	0,647	382	0,052	290	0,672	382	0,036	290	0,693	382	0,040
292	0,654	384	0,048	292	0,628	384	0,034	292	0,649	384	0,038
294	0,661	386	0,044	294	0,596	386	0,031	294	0,617	386	0,035
296	0,667	388	0,040	296	0,576	388	0,028	296	0,597	388	0,032
298	0,673	390	0,035	298	0,566	390	0,025	298	0,587	390	0,029
300	0,677	392	0,031	300	0,560	392	0,023	300	0,581	392	0,027
302	0,532	394	0,035	302	0,446	394	0,021	302	0,467	394	0,025
304	0,540	396	0,032	304	0,449	396	0,019	304	0,470	396	0,023
306	0,542	398	0,028	306	0,448	398	0,017	306	0,469	398	0,021
308	0,550	400	0,026	308	0,448	400	0,013	308	0,469	400	0,017
310	0,556	402	0,023	310	0,451	402	0,011	310	0,472	402	0,015
312	0,561	404	0,022	312	0,450	404	0,009	312	0,471	404	0,013
314	0,562	406	0,020	314	0,455	406	0,008	314	0,476	406	0,012
316	0,561	408	0,019	316	0,456	408	0,007	316	0,477	408	0,011
318	0,561	410	0,018	318	0,454	410	0,006	318	0,475	410	0,010
320	0,557	412	0,017	320	0,454	412	0,006	320	0,475	412	0,010
322	0,554	414	0,016	322	0,452	414	0,005	322	0,473	414	0,009
324	0,543	416	0,015	324	0,450	416	0,004	324	0,471	416	0,008
326	0,526	418	0,015	326	0,442	418	0,003	326	0,463	418	0,007
328	0,509	420	0,014	328	0,438	420	0,002	328	0,459	420	0,006
330	0,492			330	0,431			330	0,452		

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla II-33** Datos de barrido espectral de las muestras 25,26 y 27.

FORMULARIO PARA TOMA DE DATOS ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN EN EL UV DE TINTURA MADRE DE PROPOLEOS											
MUESTRA	25			MUESTRA	26			MUESTRA	27		
DILUCIÓN	1/5000			DILUCIÓN	1/5000			DILUCIÓN	1/6250		
240	0,131	332	0,505	240	0,111	332	0,386	240	0,096	332	0,358
242	0,121	334	0,481	242	0,082	334	0,378	242	0,073	334	0,350
244	0,125	336	0,453	244	0,109	336	0,383	244	0,094	336	0,355
246	0,224	338	0,426	246	0,168	338	0,349	246	0,100	338	0,321
248	0,236	340	0,395	248	0,150	340	0,335	248	0,082	340	0,307
250	0,236	342	0,365	250	0,154	342	0,315	250	0,086	342	0,287
252	0,262	344	0,335	252	0,165	344	0,295	252	0,097	344	0,267
254	0,242	346	0,309	254	0,143	346	0,274	254	0,075	346	0,246
256	0,244	348	0,281	256	0,179	348	0,252	256	0,111	348	0,224
258	0,174	350	0,257	258	0,143	350	0,235	258	0,115	350	0,207
260	0,196	352	0,237	260	0,151	352	0,213	260	0,123	352	0,185
262	0,184	354	0,219	262	0,154	354	0,196	262	0,126	354	0,168
264	0,181	356	0,202	264	0,133	356	0,176	264	0,105	356	0,148
266	0,204	358	0,185	266	0,164	358	0,157	266	0,136	358	0,129
268	0,232	360	0,172	268	0,167	360	0,142	268	0,139	360	0,114
270	0,290	362	0,161	270	0,265	362	0,131	270	0,237	362	0,103
272	0,393	364	0,154	272	0,393	364	0,120	272	0,365	364	0,092
274	0,477	366	0,113	274	0,485	366	0,092	274	0,457	366	0,081
276	0,525	368	0,104	276	0,555	368	0,083	276	0,527	368	0,072
278	0,567	370	0,096	278	0,607	370	0,078	278	0,579	370	0,067
280	0,600	372	0,090	280	0,632	372	0,068	280	0,604	372	0,057
282	0,625	374	0,086	282	0,645	374	0,060	282	0,617	374	0,049
284	0,645	376	0,086	284	0,641	376	0,059	284	0,613	376	0,048
286	0,659	378	0,079	286	0,628	378	0,053	286	0,600	378	0,042
288	0,671	380	0,073	288	0,608	380	0,048	288	0,580	380	0,037
290	0,682	382	0,070	290	0,578	382	0,046	290	0,550	382	0,035
292	0,689	384	0,066	292	0,545	384	0,044	292	0,517	384	0,033
294	0,696	386	0,062	294	0,519	386	0,041	294	0,491	386	0,030
296	0,702	388	0,058	296	0,502	388	0,040	296	0,474	388	0,029
298	0,708	390	0,053	298	0,494	390	0,038	298	0,466	390	0,027
300	0,712	392	0,049	300	0,410	392	0,036	300	0,382	392	0,025
302	0,567	394	0,039	302	0,408	394	0,027	302	0,380	394	0,023
304	0,575	396	0,036	304	0,407	396	0,025	304	0,379	396	0,021
306	0,577	398	0,032	306	0,408	398	0,023	306	0,380	398	0,019
308	0,585	400	0,030	308	0,410	400	0,022	308	0,382	400	0,018
310	0,591	402	0,027	310	0,411	402	0,021	310	0,383	402	0,017
312	0,596	404	0,026	312	0,411	404	0,020	312	0,383	404	0,016
314	0,597	406	0,024	314	0,413	406	0,019	314	0,385	406	0,015
316	0,596	408	0,023	316	0,414	408	0,018	316	0,386	408	0,014
318	0,596	410	0,022	318	0,414	410	0,017	318	0,386	410	0,013
320	0,592	412	0,021	320	0,412	412	0,017	320	0,384	412	0,013
322	0,589	414	0,020	322	0,412	414	0,016	322	0,384	414	0,012
324	0,578	416	0,019	324	0,408	416	0,015	324	0,380	416	0,011
326	0,561	418	0,019	326	0,404	418	0,014	326	0,376	418	0,010
328	0,544	420	0,018	328	0,401	420	0,013	328	0,373	420	0,009
330	0,527			330	0,392			330	0,364		

**Fuente:** Elaboración propia



**Tabla II-34** Datos de barrido espectral de las muestras 28 y 29.

FORMULARIO PARA TOMA DE DATOS ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN EN EL UV DE TINTURA MADRE DE PROPOLEOS							
MUESTRA		28		MUESTRA		29	
DILUCIÓN		1/6250		DILUCIÓN		1/2500	
240	0,108	332	0,614	240	0,103	332	0,385
242	0,111	334	0,577	242	0,068	334	0,370
244	0,122	336	0,543	244	0,099	336	0,355
246	0,122	338	0,502	246	0,095	338	0,336
248	0,137	340	0,461	248	0,079	340	0,318
250	0,141	342	0,416	250	0,085	342	0,294
252	0,145	344	0,376	252	0,108	344	0,271
254	0,158	346	0,358	254	0,090	346	0,250
256	0,170	348	0,308	256	0,117	348	0,206
258	0,172	350	0,281	258	0,122	350	0,166
260	0,170	352	0,225	260	0,106	352	0,167
262	0,188	354	0,232	262	0,129	354	0,148
264	0,188	356	0,209	264	0,120	356	0,131
266	0,203	358	0,190	266	0,145	358	0,115
268	0,227	360	0,176	268	0,171	360	0,104
270	0,320	362	0,157	270	0,253	362	0,094
272	0,423	364	0,145	272	0,391	364	0,083
274	0,504	366	0,140	274	0,487	366	0,074
276	0,559	368	0,133	276	0,570	368	0,069
278	0,606	370	0,127	278	0,629	370	0,062
280	0,646	372	0,121	280	0,660	372	0,065
282	0,679	374	0,116	282	0,676	374	0,061
284	0,711	376	0,111	284	0,673	376	0,056
286	0,743	378	0,103	286	0,667	378	0,053
288	0,770	380	0,099	288	0,652	380	0,040
290	0,798	382	0,093	290	0,628	382	0,036
292	0,824	384	0,085	292	0,600	384	0,034
294	0,847	386	0,078	294	0,577	386	0,031
296	0,866	388	0,067	296	0,563	388	0,030
298	0,881	390	0,061	298	0,555	390	0,029
300	0,892	392	0,052	300	0,550	392	0,028
302	0,679	394	0,045	302	0,444	394	0,027
304	0,693	396	0,037	304	0,445	396	0,026
306	0,701	398	0,032	306	0,446	398	0,025
308	0,712	400	0,029	308	0,441	400	0,017
310	0,723	402	0,027	310	0,444	402	0,016
312	0,732	404	0,024	312	0,441	404	0,015
314	0,738	406	0,021	314	0,444	406	0,013
316	0,743	408	0,017	316	0,444	408	0,012
318	0,740	410	0,015	318	0,438	410	0,010
320	0,740	412	0,016	320	0,434	412	0,010
322	0,731	414	0,014	322	0,428	414	0,009
324	0,715	416	0,013	324	0,423	416	0,008
326	0,697	418	0,011	326	0,416	418	0,007
328	0,673	420	0,008	328	0,407	420	0,006
330	0,645			330	0,396		

**Fuente:** Elaboración propia

**CAPÍTULO III**  
**RESULTADOS Y DISCUSIONES**

### 3.1. Análisis de resultados de los ensayos fisicoquímico de la Miel

A continuación, se detallan todos los resultados obtenidos de las distintas muestras de miel; dichos datos están ya tabulados, a partir de los informes entregados por el CEANID, los mismos que se encuentran en el anexo 3.

**Tabla III-1** Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra N° 1 de miel de abejas muestreada de la localidad de Salinas fuera.

PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	SALINAS FUERA	LÍMITES PERMITIDOS	REFERENCIA LIMITE	ESTADO
Acidez libre	Titulación con NaOH	meq ac/Kg.	32,43	máx. 40	Codex Alimentarius	OK
Ácido Ascórbico	Método Tillman	mg/100g.	< 2	Sin referencia	Sin referencia	
Azúcares reductores	AOAC 923-09	%	80,69	min. 65	Codex Alimentarius	OK
Azúcares totales	AOAC 923-09	%	83,19	máx. 85	COVENIN	OK
Calcio	NB 553-91	mg/100g.	9,30	Sin referencia	Sin referencia	
Cenizas	NB 075-74	%	0,24	máx. 0,6	Codex Alimentarius	OK
Conductividad(27,1°C)	SM 2510-B	µS/cm	429,00	máx. 800	Comisión Int. Nal. De miel	OK
Densidad relativa(25°C)	NB 230-99		1,3642	Sin referencia	Sin referencia	
Fósforo	NB 554-91	mg/100g.	7,40	Sin referencia	Sin referencia	OK
Humedad	NB 383-80	%	18,00	máx. 21	Codex Alimentarius	OK
Ph(24°C)	SM 4500-H-B		3,63	max. 4	COVENIN	OK
Proteína Total(N*6,25)	NB 466-81	%	0,86	Sin referencia	Sin referencia	
Sacarosa aparente	Cálculo	%	2,50	máx. 5	Codex Alimentarius	OK
Sólidos Insolubles	NB 456-81	%	0,06	máx. 0,1	Codex Alimentarius	OK

**Fuente:** Elaboración propia

En esta tabla se resumen todos los resultados de los análisis que se realizaron en la muestra procedente de la localidad de Salinas fuera, y como se aprecia en la última columna “ESTADO” que es una columna de comparación de datos entre los datos obtenidos y los límites de referencia, todos los parámetros están dentro de los límites de referencia, por lo que se puede decir que la muestra cumple con todos los parámetros físico-químicos para ser considerada una miel de excelentes características.

**Tabla III-2** Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas muestreada de la localidad de Salinas.

PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	SALINAS	LÍMITES PERMITIDOS	REFERENCIA LIMITE	ESTADO
Acidez libre	Titulación con NaOH	meq ac/Kg.	40,44	máx. 40	Codex Alimentarius	NO OK
Ácido Ascórbico	Método Tillman	mg/100g.	< 2	Sin referencia	Sin referencia	
Azúcares reductores	AOAC 923-09	%	79,19	min. 65	Codex Alimentarius	OK
Azúcares totales	AOAC 923-09	%	82,09	máx. 85	COVENIN	OK
Calcio	NB 553-91	mg/100g.	10,60	Sin referencia	Sin referencia	
Cenizas	NB 075-74	%	0,26	máx. 0,6	Codex Alimentarius	OK
Conductividad(27,1°C)	SM 2510-B	µS/cm	547,00	máx. 800	Comisión Int. Nal. De miel	OK
Densidad relativa(25°C)	NB 230-99		1,3948	Sin referencia	Sin referencia	
Fósforo	NB 554-91	mg/100g.	8,30	Sin referencia	Sin referencia	OK
Humedad	NB 383-80	%	19,60	máx. 21	Codex Alimentarius	OK
Ph(24°C)	SM 4500-H-B		3,53	max. 4	COVENIN	OK
Proteína Total(N*6,25)	NB 466-81	%	1,16	Sin referencia	Sin referencia	
Sacarosa aparente	Cálculo	%	2,90	máx. 5	Codex Alimentarius	OK
Sólidos Insolubles	NB 456-81	%	0,09	máx. 0,1	Codex Alimentarius	OK

**Fuente:** Elaboración propia

En el caso de la muestra de Salinas, ésta presenta en la columna de estado un parámetro que está ligeramente desviado de lo que establece el límite permitido en el Codex Alimentarius y la norma Boliviana NB 38023.

Esta desviación se puede presentar por almacenamiento, ya que ambos tipos de acidez, libre y láctica, aumentan durante el almacenamiento Zandamela, E. M. F. (2008); sin embargo, el ensayo se realizó en una muestra fresca por lo que esta posibilidad es descartada.

La otra posibilidad es que por la acción microbiana, el alcohol procedente de la fermentación de los azúcares se transforma en ácido, de ahí su exigencia legal de su determinación, y su importancia como criterio de calidad y puede variar en un amplio rango, ya que según Anónimo 2001<sup>a</sup> y Anónimo 2003, permite un máximo de 50 meq/Kg; sin embargo, se describen mieles que de forma natural y recién extraídas

presentan acidez libre mayor que el límite estipulado, sin que por ello presenten problemas de fermentación, conservación, ni alteración (Zandamela, E.M.F. 2008).

Por lo que esta pequeña desviación sería un problema de calidad si se comprobarían desviaciones en microbiología, y un alto contenido de humedad, por el cual podría ésta fermentar y dar paso a la acidificación microbiana; pero, como se puede apreciar la humedad está dentro de la especificación, por lo que se puede llegar a deducir que esta miel tiene acidez libre alta de forma natural.

**Tabla III-3** Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra N°2 de miel de abejas muestreada de la localidad de Chiquiacá.

PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	CHIQUIACA	LÍMITES PERMITIDOS	REFERENCIA LIMITE	ESTADO
Acidez libre	Titulación con NaOH	meq ac/Kg.	36,67	máx. 40	Codex Alimentarius	OK
Ácido Ascorbico	Método Tillman	mg/100g.	< 2	Sin referencia	Sin referencia	
Azúcares reductores	AOAC 923-09	%	81,29	min. 65	Codex Alimentarius	OK
Azúcares totales	AOAC 923-09	%	82,69	máx. 85	COVENIN	OK
Calcio	NB 553-91	mg/100g.	7,50	Sin referencia	Sin referencia	
Cenizas	NB 075-74	%	0,22	máx. 0,6	Codex Alimentarius	OK
Conductividad(27,1°C)	SM 2510-B	µS/cm	414,00	máx. 800	Comisión Int. Nal. De miel	OK
Densidad relativa(25°C)	NB 230-99		1,4197	Sin referencia	Sin referencia	
Fósforo	NB 554-91	mg/100g.	5,60	Sin referencia	Sin referencia	OK
Humedad	NB 383-80	%	17,80	máx. 21	Codex Alimentarius	OK
Ph(24°C)	SM 4500-H-B		3,33	max. 4	COVENIN	OK
Proteína Total(N*6,25)	NB 466-81	%	0,44	Sin referencia	Sin referencia	
Sacarosa aparente	Cálculo	%	1,40	máx. 5	Codex Alimentarius	OK
Sólidos Insolubles	NB 456-81	%	0,11	máx. 0,1	Codex Alimentarius	NO OK

**Fuente:** Elaboración propia

En este caso, la columna de “ESTADO” muestra una desviación en el parámetro de Sólidos insolubles, el cual es un parámetro para detectar el grado de impurezas en la miel durante su obtención, y que vienen a afectar a propiedades físicas del producto como la textura, estabilidad y resistencia.

Como bien se mencionó, este parámetro nos da una idea de la obtención; como se verá en la tabla resumen de clasificación preliminar, esta miel fue extraída por

presando, para dicho proceso en el que se da una holgura en este parámetro, según Codex Alimentarius, hasta de 0,5 %.

**Tabla III-4** Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas de la localidad de Motoví.

PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	MOTOVÍ	LÍMITES PERMITIDOS	REFERENCIA LIMITE	ESTADO
Acidez libre	Titulación con NaOH	meq ac/Kg.	46,93	máx. 40	Codex Alimentarius	NO OK
Ácido Ascorbico	Método Tillman	mg/100g.	< 2	Sin referencia	Sin referencia	
Azúcares reductores	AOAC 923-09	%	80,58	min. 65	Codex Alimentarius	OK
Azúcares totales	AOAC 923-09	%	87,47	máx. 85	COVENIN	NO OK
Calcio	NB 553-91	mg/100g.	15,90	Sin referencia	Sin referencia	
Cenizas	NB 075-74	%	0,34	máx. 0,6	Codex Alimentarius	OK
Conductividad(27,1°C)	SM 2510-B	µS/cm	682,00	máx. 800	Comisión Int. Nal. De miel	OK
Densidad relativa(25°C)	NB 230-99		1,4208	Sin referencia	Sin referencia	
Fósforo	NB 554-91	mg/100g.	8,50	Sin referencia	Sin referencia	OK
Humedad	NB 383-80	%	17,20	máx. 21	Codex Alimentarius	OK
Ph(24°C)	SM 4500-H-B		3,60	max. 4	COVENIN	OK
Proteína Total(N*6,25)	NB 466-81	%	0,60	Sin referencia	Sin referencia	
Sacarosa aparente	Cálculo	%	6,89	máx. 5	Codex Alimentarius	NO OK
Sólidos Insolubles	NB 456-81	%	0,10	máx. 0,1	Codex Alimentarius	NO OK

**Fuente:** Elaboración propia

En este caso, para la muestra de Motoví, se tiene en la columna “ESTADO” varios parámetros fuera de los límites fijados en la tabla; el primero Acidez libre presenta la misma situación de la muestra número 1 por lo que el análisis es el mismo.

Otro parámetro que está desviado es el de azúcares totales, que no se menciona especificación en la norma Boliviana, ni en el Codex Alimentarius, por lo que el valor de COVENIN es solo de referencia.

En cuanto al parámetro de sacarosa aparente, esta elevada concentración puede darse por la adulteración de la miel o alimentación artificial de las abejas con jarabe de sacarosa durante mucho tiempo; dichas causas son desechadas puesto que la muestra fue tomada de la colmena por técnicos de la AARNFFT, y la alimentación con jarabes de sacarosa no es una práctica común en la reserva.

Por lo que la elevada concentración de sacarosa se pudo dar por ser una miel de mielada que según la bibliografía acepta hasta un 10 % en sacarosa para normativas internacionales. También en esta excepción de 10% en sacarosa aparente, entran mieles procedentes de ciertos tipos florales (espliego, acacia, alfalfa, citrus spp), que también dan valores elevados o que hasta pueden rebasar el 10% como en el caso de miel de Borraja (*Borago officinalis*) y de Espliego (*Lavandula spp.*) las cuales pueden contener un máximo de 15g / 100g).

Y por último, se tiene un valor de sólidos insolubles al límite de lo que es la especificación, como se vio, puede ser fundamentado por la forma de extracción de la miel que en este caso se realizó por prensado.

**Tabla III-5** Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas muestreada de la localidad de San José.

PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	SAN JOSÉ	LÍMITES PERMITIDOS	REFERENCIA LIMITE	ESTADO
Acidez libre	Titulación con NaOH	meq ac/Kg.	26,92	máx. 40	Codex Alimentarius	OK
Ácido Ascórbico	Método Tillman	mg/100g.	< 2	Sin referencia	Sin referencia	
Azúcares reductores	AOAC 923-09	%	81,58	min. 65	Codex Alimentarius	OK
Azúcares totales	AOAC 923-09	%	84,78	máx. 85	COVENIN	OK
Calcio	NB 553-91	mg/100g.	8,00	Sin referencia	Sin referencia	
Cenizas	NB 075-74	%	0,19	máx. 0,6	Codex Alimentarius	OK
Conductividad(27,1°C)	SM 2510-B	µS/cm	373,00	máx. 800	Comisión Int. Nal. De miel	OK
Densidad relativa(25°C)	NB 230-99		1,4105	Sin referencia	Sin referencia	
Fósforo	NB 554-91	mg/100g.	4,30	Sin referencia	Sin referencia	OK
Humedad	NB 383-80	%	16,80	máx. 21	Codex Alimentarius	OK
Ph(24°C)	SM 4500-H-B		3,47	max. 4	COVENIN	OK
Proteína Total(N*6,25)	NB 466-81	%	1,03	Sin referencia	Sin referencia	
Sacarosa aparente	Cálculo	%	3,20	máx. 5	Codex Alimentarius	OK
Sólidos Insolubles	NB 456-81	%	0,08	máx. 0,1	Codex Alimentarius	OK

**Fuente:** Elaboración propia

En este cuadro, se resumen todos los resultados de los análisis que se realizaron en la muestra procedente de la localidad de San José, y como se aprecia en la columna “ESTADO, todos los parámetros están dentro de lo permisible, por lo que se puede

decir que la muestra cumple con todos los parámetros físico-químicos para ser considerada una miel de excelentes condiciones.

En el cuadro III-6 se resumen todos los resultados de los análisis que se realizaron en la muestra procedente de la localidad de Chiquiacá, y como se aprecia en la columna “ESTADO, todos los parámetros están dentro de lo permisible, por lo que se puede decir que la muestra cumple con todos los parámetros físico-químicos para ser considerada una miel de excelentes condiciones.

**Tabla III-6** Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas muestreada de la localidad de Chiquiacá.

PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	CHIQUIACÁ	LÍMITES PERMITIDOS	REFERENCIA LIMITE	ESTADO
Acidez libre	Titulación con NaOH	meq ac/Kg.	18,25	máx. 40	NB 38023	OK
Azúcares reductores	AOAC 923-09	%	78,46	min. 65	NB 38023	OK
Azúcares totales	AOAC 923-09	%	79,46	máx. 85	COVENIN	OK
Conductividad	SM 2510-B	μS/cm	168,50	máx. 800	Comisión Int. Nal. De miel	OK
Cenizas	NB 075-74	%	0,19	máx. 0,6	NB 38023	OK
Densidad relativa(20°C)	NB 230-99		1,38	min. 1,37	NB 38023	OK
Fibra	Manual tec. CEANID	%	0,00	Sin referencia	Sin referencia	
Fósforo	NB 554-91	mg/100g.	3,74	Sin referencia	Sin referencia	
Grasa	NB 465-97	%	1,20	Sin referencia	Sin referencia	
Humedad	NB 383-80	%	17,04	máx. 20	NB 38023	OK
Hidratos de carbono	Cálculo	%	80,81	Sin referencia	Sin referencia	
Ph(20°C)	SM 4500-H-B		4,59	min. 3,9	NB 38023	OK
Proteína Total(N*6,25)	NB 466-81	%	0,76	Sin referencia	Sin referencia	
Sacarosa aparente	Cálculo	%	1,00	máx. 5	NB 38023	OK
Sólidos Insolubles	NB 456-81	%	0,12	máx. 0,3	NB 38023	OK
Valor Energético	Cálculo	Kcal/100g	337,08	Sin referencia	Sin referencia	
Bacterias aerobias mesófilas	NB 32003	ufc/g	1900,00	10000	NB 38023	OK
Salmonella	NB 32007	p/a 25g	Ausencia	0	NB 38023	OK

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla III-7 correspondiente a la muestra de Pampa Grande el parámetro de sólidos insolubles presenta un ligero incremento; por el método de prensado que se utilizó para su obtención.



**Tabla III-7** Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas de la localidad de Pampa Grande.

PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	PAMPA GRANDE	LÍMITES PERMITIDOS	REFERENCIA LIMITE	ESTADO
Acidez libre	Titulación con NaOH	meq ac/Kg.	25,77	máx. 40	NB 38023	OK
Azúcares reductores	AOAC 923-09	%	78,73	min. 65	NB 38023	OK
Azúcares totales	AOAC 923-09	%	79,16	máx. 85	COVENIN	OK
Conductividad	SM 2510-B	µS/cm	250,70	máx. 800	Comisión Int. Nal. De miel	OK
Cenizas	NB 075-74	%	0,31	máx. 0,6	NB 38023	OK
Densidad relativa(20°C)	NB 230-99		1,42	min. 1,37	NB 38023	OK
Fibra	Manual tec. CEANID	%	0,00	Sin referencia	Sin referencia	
Fósforo	NB 554-91	mg/100g.	6,48	Sin referencia	Sin referencia	
Grasa	NB 465-97	%	1,80	Sin referencia	Sin referencia	
Humedad	NB 383-80	%	18,40	máx. 20	NB 38023	OK
Hidratos de carbono	Cálculo	%	79,17	Sin referencia	Sin referencia	
Ph(20°C)	SM 4500-H-B		4,27	min. 3,9	NB 38023	OK
Proteína Total(N*6,25)	NB 466-81	%	0,68	Sin referencia	Sin referencia	
Sacarosa aparente	Cálculo	%	0,43	máx. 5	NB 38023	OK
Sólidos Insolubles	NB 456-81	%	0,39	máx. 0,3	NB 38023	NO OK
Valor Energético	Cálculo	Kcal/100g	335,60	Sin referencia	Sin referencia	
Bacterias aerobias mesó	NB 32003	ufc/g	1800,00	10000	NB 38023	OK
Salmonella	NB 32007	p/a 25g	Ausencia	0	NB 38023	OK

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla III-8** Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas muestreada de la localidad de Salinas.

PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	SALINAS	LÍMITES PERMITIDOS	REFERENCIA LIMITE	ESTADO
Acidez libre	Titulación con NaOH	meq ac/Kg.	16,56	máx. 40	NB 38023	OK
Azúcares reductores	AOAC 923-09	%	76,57	min. 65	NB 38023	OK
Azúcares totales	AOAC 923-09	%	79,13	máx. 85	COVENIN	OK
Conductividad	SM 2510-B	µS/cm	201,67	máx. 800	Comisión Int. Nal. De miel	OK
Cenizas	NB 075-74	%	0,25	máx. 0,6	NB 38023	OK
Densidad relativa(20°C)	NB 230-99		1,42	min. 1,37	NB 38023	OK
Fibra	Manual tec. CEANID	%	0,00	Sin referencia	Sin referencia	
Fósforo	NB 554-91	mg/100g.	3,84	Sin referencia	Sin referencia	
Grasa	NB 465-97	%	0,51	Sin referencia	Sin referencia	
Humedad	NB 383-80	%	16,60	máx. 20	NB 38023	OK
Hidratos de carbono	Cálculo	%	81,98	Sin referencia	Sin referencia	
Ph(20°C)	SM 4500-H-B		4,45	min. 3,9	NB 38023	OK
Proteína Total(N*6,25)	NB 466-81	%	0,66	Sin referencia	Sin referencia	
Sacarosa aparente	Cálculo	%	2,56	máx. 5	NB 38023	OK
Sólidos Insolubles	NB 456-81	%	0,49	máx. 0,3	NB 38023	NO OK
Valor Energético	Cálculo	Kcal/100g	335,15	Sin referencia	Sin referencia	
Bacterias aerobias mesófilas	NB 32003	ufc/g	1800,00	10000	NB 38023	OK
Salmonella	NB 32007	p/a 25g	Ausencia	0	NB 38023	OK

**Fuente:** Elaboración propia

En el Análisis de la muestra correspondiente Salinas tabla III-8 se detectó una desviación en el parámetro de Sólidos Insolubles, observando el cuadro resumen de la clasificación preliminar, se observa que esta es una muestra obtenida por prensado por lo que este valor era de esperarse.

**Tabla III-9** Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas muestreada de la localidad de Motoví.

PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	MOTOVÍ	LÍMITES PERMITIDOS	REFERENCIA LIMITE	ESTADO
Acidez libre	Titulación con NaOH	meq ac/Kg.	21,96	máx. 40	NB 38023	OK
Azúcares reductores	AOAC 923-09	%	76,84	min. 65	NB 38023	OK
Azúcares totales	AOAC 923-09	%	80,19	máx. 85	COVENIN	OK
Conductividad	SM 2510-B	µS/cm	166,33	máx. 800	Comisión Int. Nal. De miel	OK
Cenizas	NB 075-74	%	0,91	máx. 0,6	NB 38023	NO OK
Densidad relativa(20°C)	NB 230-99		1,75	min. 1,37	NB 38023	OK
Fibra	Manual tec. CEANID	%	0,00	Sin referencia	Sin referencia	
Fósforo	NB 554-91	mg/100g.	3,68	Sin referencia	Sin referencia	
Grasa	NB 465-97	%	0,47	Sin referencia	Sin referencia	
Humedad	NB 383-80	%	16,76	máx. 20	NB 38023	OK
Hidratos de carbono	Cálculo	%	81,15	Sin referencia	Sin referencia	
Ph(20°C)	SM 4500-H-B		4,23	min. 3,9	NB 38023	OK
Proteína Total(N*6,25)	NB 466-81	%	0,71	Sin referencia	Sin referencia	
Sacarosa aparente	Cálculo	%	3,35	máx. 5	NB 38023	OK
Sólidos Insolubles	NB 456-81	%	0,24	máx. 0,3	NB 38023	OK
Valor Energético	Cálculo	Kcal/100g	331,67	Sin referencia	Sin referencia	
Bacterias aerobias mesófilas	NB 32003	ufc/g	2100,00	10000	NB 38023	OK
Salmonella	NB 32007	p/a 25g	Ausencia	0	NB 38023	OK

**Fuente:** Elaboración propia

En la columna “ESTADO” de la tabla III-9 correspondiente a la muestra de Motoví aparece el parámetro cenizas el cual se encuentra 0,31 % por encima de lo que exige la norma Boliviana; la desviación puede haberse dado por varias razones que analizaremos a continuación. Contaminación con metales pesados por contaminación medio ambiental en la zona, lo cual es poco probable ya que esta es una reserva donde aún se mantienen las formas artesanales de cultivo. Otra de las causas sería que esta miel sea una miel de mielada, que aunque fue una miel cosechada en verano podría ser procedente de un área donde predomine el bosque, es decir, plantas poco

florales, pero por las características de esta miel, ya que las mieles que contienen altas concentraciones de minerales o cenizas son de color oscuro y sabor fuerte, y esta presenta un color amarillo blanquecino y sabor suave; además, su conductividad eléctrica es muy baja y se puede deducir que esta concentración elevada se puede considerar por una contaminación puntual al momento de la extracción.

**Tabla III-10** Resumen de los resultados del análisis fisicoquímico realizado por el CEANID de la muestra de miel de abejas muestreada de la localidad de Naranjo Agrio.

PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	NARANJO AGRIO	LÍMITES PERMITIDOS	REFERENCIA LIMITE	ESTADO
Acidez libre	Titulación con NaOH	meq ac/Kg.	29,25	máx. 40	NB 38023	OK
Azúcares reductores	AOAC 923-09	%	78,40	min. 65	NB 38023	OK
Azúcares totales	AOAC 923-09	%	79,70	máx. 85	COVENIN	OK
Conductividad	SM 2510-B	μS/cm	120,53	máx. 800	Comisión Int. Nal. De miel	OK
Cenizas	NB 075-74	%	1,09	máx. 0,6	NB 38023	NO OK
Densidad relativa(20°C)	NB 230-99		1,77	min. 1,37	NB 38023	OK
Fibra	Manual tec. CEANID	%	0,00	Sin referencia	Sin referencia	
Fósforo	NB 554-91	mg/100g.	3,19	Sin referencia	Sin referencia	
Grasa	NB 465-97	%	0,49	Sin referencia	Sin referencia	
Humedad	NB 383-80	%	16,40	máx. 20	NB 38023	OK
Hidratos de carbono	Cálculo	%	81,42	Sin referencia	Sin referencia	
Ph(20°C)	SM 4500-H-B		3,77	min. 3,9	NB 38023	NO OK
Proteína Total(N*6,25)	NB 466-81	%	0,60	Sin referencia	Sin referencia	
Sacarosa aparente	Cálculo	%	1,30	máx. 5	NB 38023	OK
Sólidos Insolubles	NB 456-81	%	0,51	máx. 0,3	NB 38023	NO OK
Valor Energético	Cálculo	Kcal/100g	352,49	Sin referencia	Sin referencia	
Bacterias aerobias mesófilas	NB 32003	ufc/g	200,00	10000	NB 38023	OK
Salmonella	NB 32007	p/a 25g	Ausencia	0	NB 38023	OK

**Fuente:** Elaboración propia

En la columna ESTADO de la tabla III-10 correspondiente a la muestra de Naranjo Agrio, se observa que existen tres parámetros fuera de los límites de los cuales dos están relacionados, como era de esperarse, ya que por tratarse de una muestra que se recolectó de una zona donde ponderan los cítricos, en la época que se colectó la muestra estos están en plena producción por lo que la disponibilidad de flores es

mínima; la miel se puede considerar una miel de mielada para el tema cenizas, en cuanto a la acidez por el mismo hecho de su origen botánico, ya que según Louveaux, el pH de la miel oscila entre 3,4 hasta 6,1 con una media de 3,9.

Y por último, los sólidos insolubles están sobre el límite por el método de extracción, puesto que se realizó por medio de prensado, pero aun así está por encima de lo permitido para mieles extraídas por este método.

### **3.2. Análisis de los resultados obtenidos de los análisis del Propóleo bruto y de la tintura madre de propóleo.**

#### **3.2.1. Análisis preliminar**

Como se pudo apreciar en el análisis preliminar, las 7 muestras de propóleo presentan muchas formas, y su cosecha no es planificada sino que se produce en función a la necesidad de la colmena, y su extracción corresponde al método artesanal por raspado de los cuadros y cajas, lo que introduce gran cantidad de impurezas mecánicas, las cuales fueron retiradas en el proceso de acondicionamiento del propóleo, con el fin de evitar concentraciones indeseadas en nuestros resultados, ya que como se pudo observar, estas concentraciones alcanzaron hasta 4,61 %, que es desde luego un porcentaje alto de impurezas.

#### **3.2.2. Análisis de resultados de los ensayos de propóleo bruto.**

##### **3.2.2.1. Análisis de datos de la determinación del porcentaje de humedad**

Los resultados obtenidos de las distintas muestras se resumen en la siguiente tabla, en la que además se tienen los datos del promedio de humedad de todas las muestras que alcanza un 1,62%; el dato de humedad mínimo registrado que es de 0,77% y el máximo es de 2,92%, lo que nos da un rango de variación de este parámetro, para las 7 muestras analizadas, de 2,15%.

**Tabla III-11** Resumen de los resultados obtenidos del ensayo de Humedad realizado en la balanza EUROTHERM.

MUESTRA	% HUMEDAD INDIVIDUAL	% HUMEDAD PROMEDIO
SALINAS	1,93	1,95
	1,97	
CHIQUIACA	1,19	1,20
	1,21	
LA PLANCHADA	0,77	0,80
	0,82	
MOTOVÍ	2,84	2,88
	2,92	
SAN JOSÉ	1,77	1,78
	1,79	
VOLCÁN BLANCO	1,12	1,14
	1,16	
TARIQUIA	1,63	1,60
	1,57	

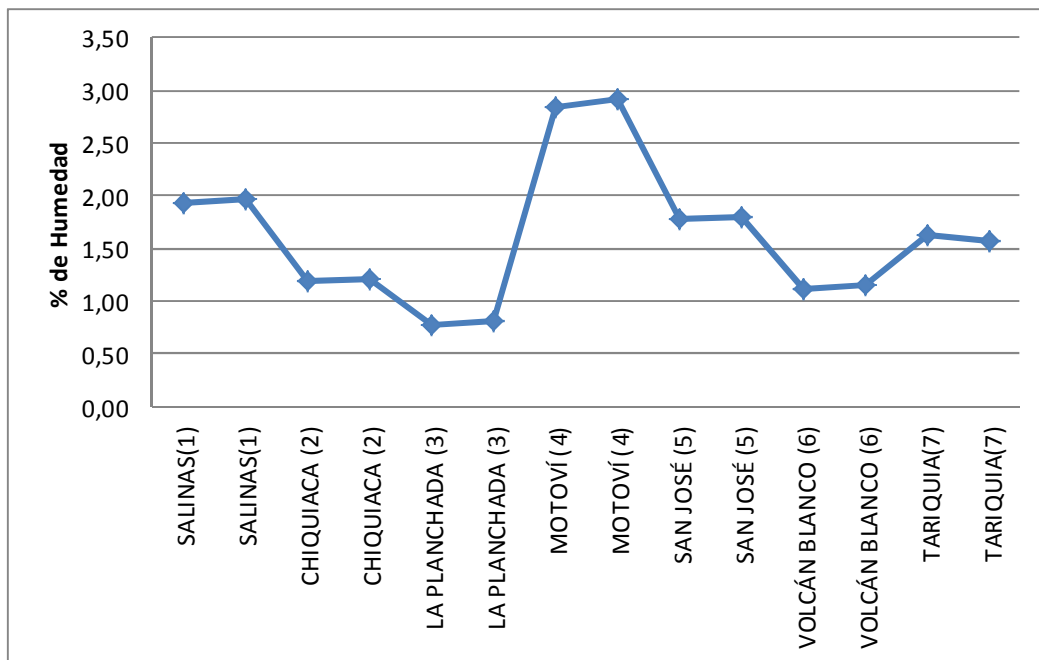
<b>PROMEDIO</b>	1,62
<b>MÍNIMO</b>	0,77
<b>MÁXIMO</b>	2,92
<b>RANGO</b>	2,15

**Fuente:** Elaboración propia

De este análisis se puede deducir que las muestras de propóleos muestreadas contienen baja humedad, ya que según las composiciones de los propóleos, por ejemplo de Uruguay, tienen un promedio de 3,63%, y entre los propóleos que más humedad contienen están los brasileros que tienen un promedio de 7,94% de humedad, ( Bedascarrasbure, Maldonado, Fierro y Álvarez 2006).

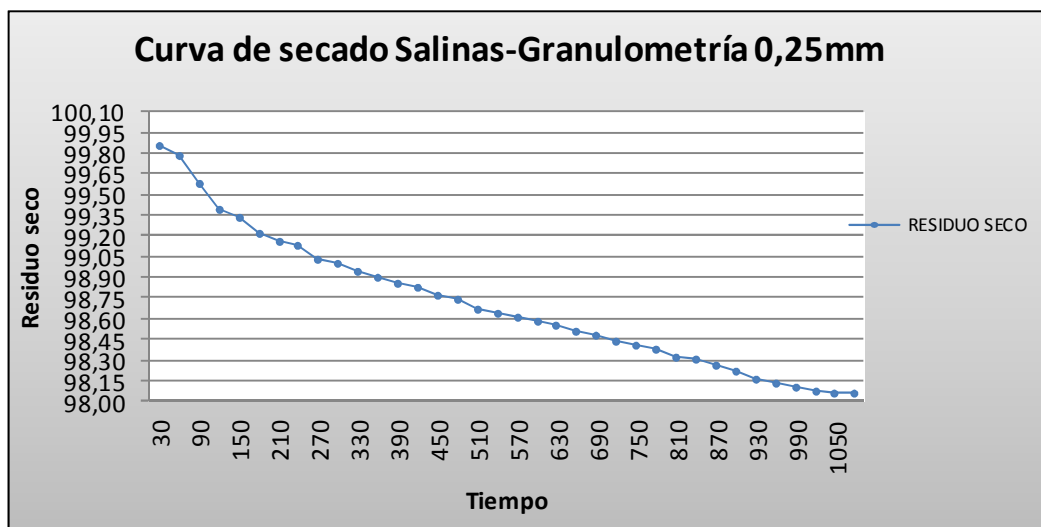
Para poder apreciar de mejor manera la distribución de humedades de las distintas muestras, se graficaron los distintos valores de humedades, teniendo en cuenta los análisis en paralelo que se hicieron de cada una de las muestras, dicha gráfica se muestra a continuación en la figura 3.1. Además, se graficaron las curvas de secado para cada una de las muestras, en las mismas se puede apreciar que el secado se llevó adelante de buena manera, ya que se muestra, curvas con pendientes no muy pronunciadas que dan cuenta de un secado gradual, hasta alcanzar peso constante.

**Figura 3.1** Gráfica de los distintos valores e humedad obtenidos de las 7 muestras de propóleos, más sus duplicados.



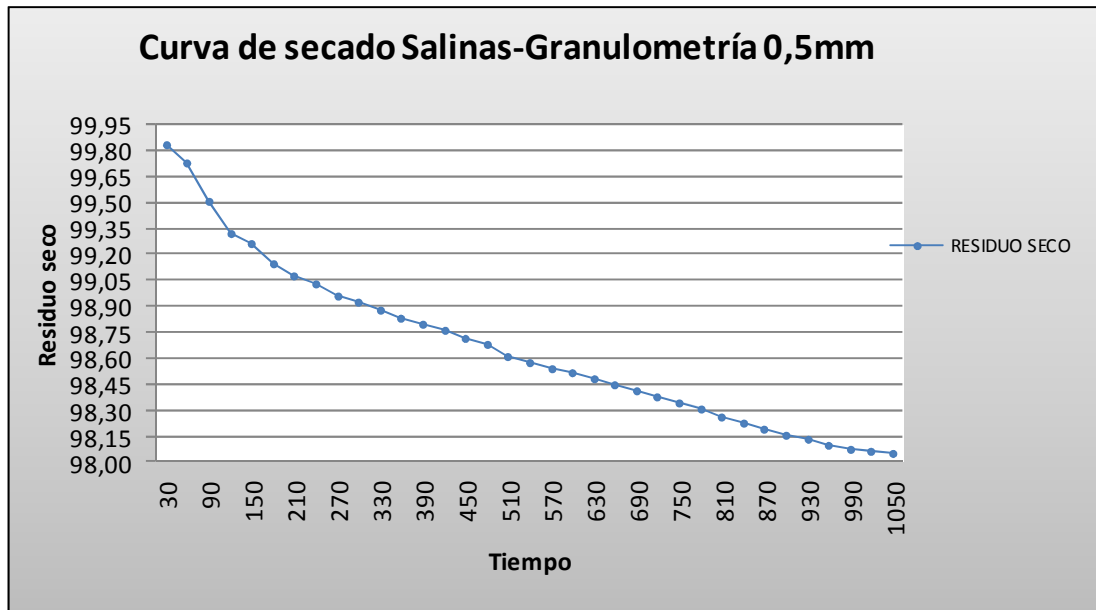
Fuente: Elaboración propia.

**Figura 3.2** Curva de secado Salinas (0,25mm)



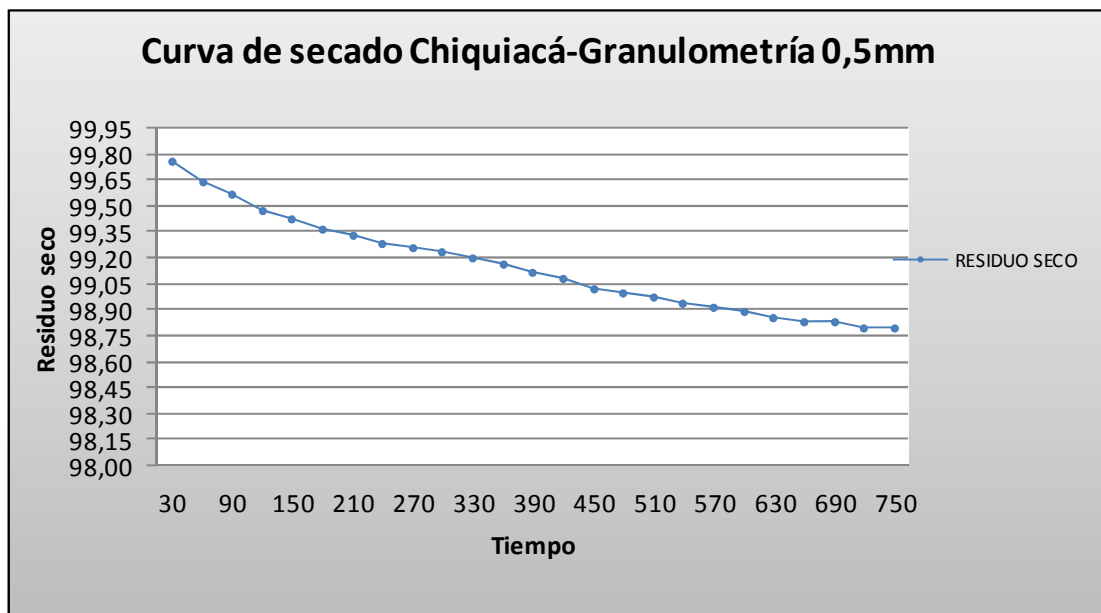
Fuente: Elaboración propia.

**Figura 3.3** Curva de secado Salinas (0,5mm)



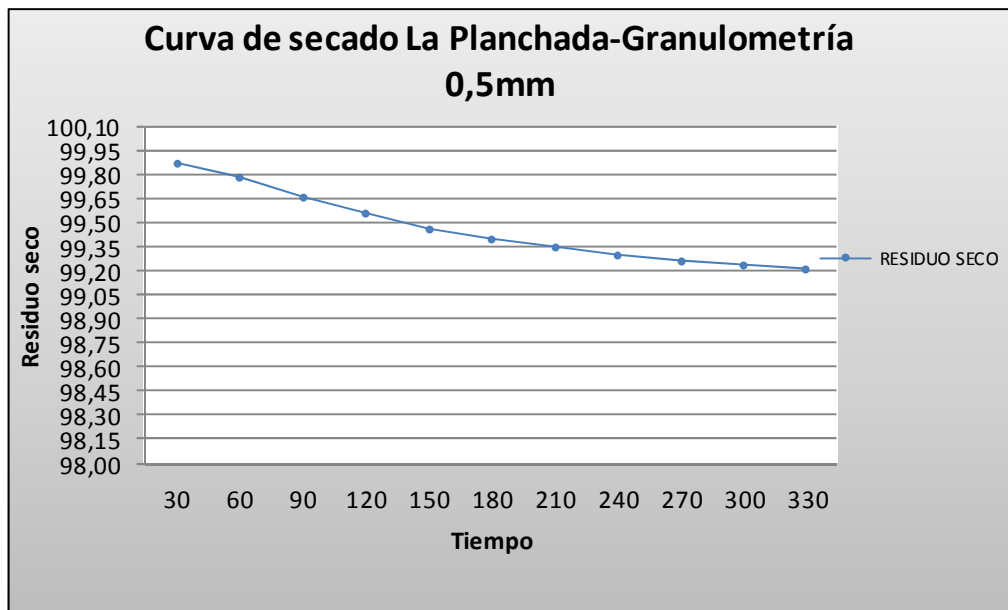
**Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 3.4** Curva de secado Chiquiacá (0,5mm)



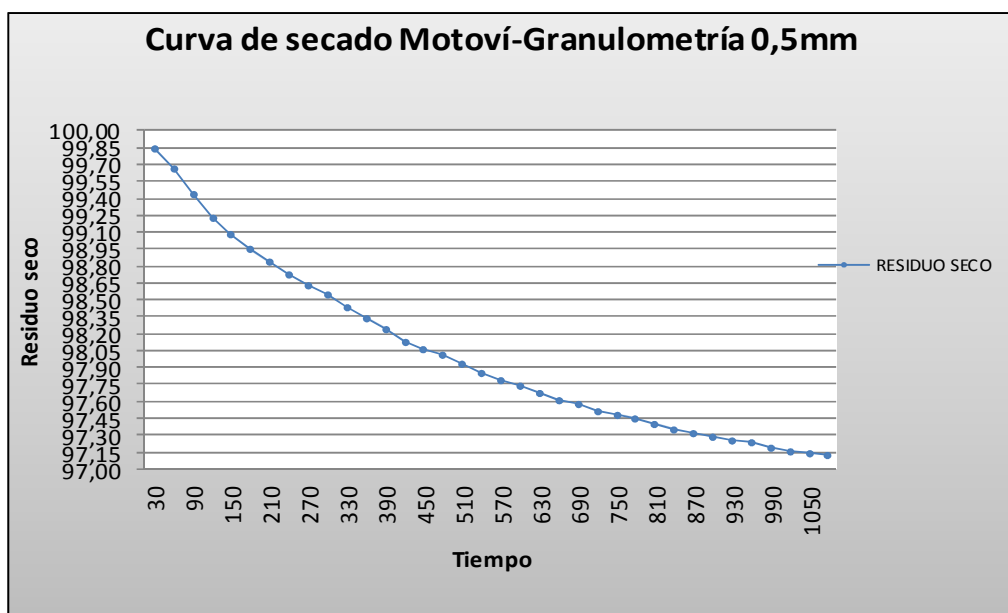
**Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 3.5** Curva de secado La Planchada (0,5mm)



**Fuente:** Elaboración propia.

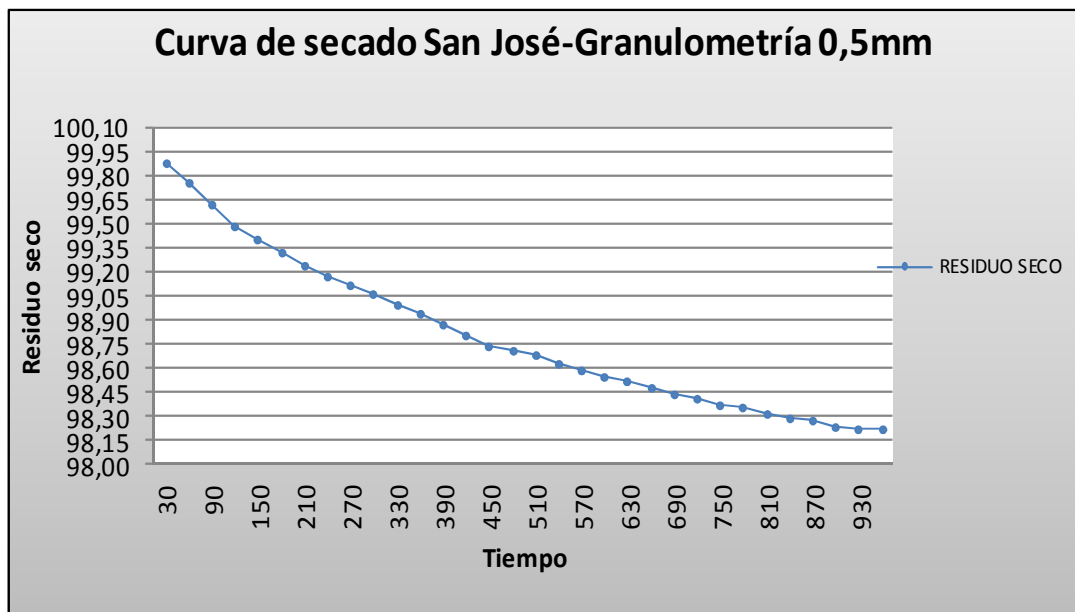
**Figura 3.6** Curva de secado Motoví (0,5mm)



**Fuente:** Elaboración propia.

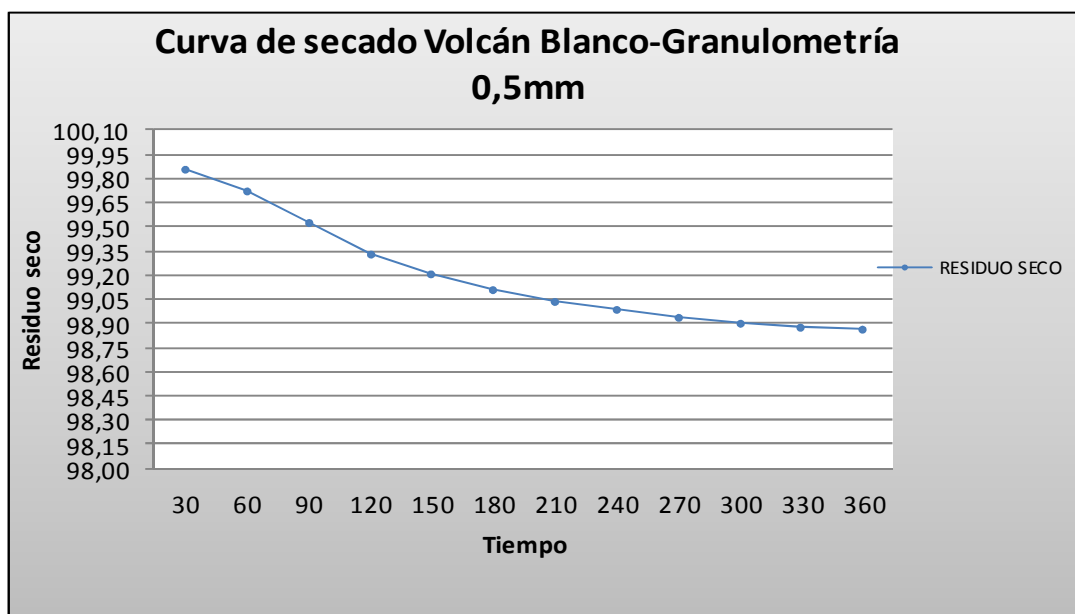


**Figura 3.7** Curva de secado San José (0,5mm)



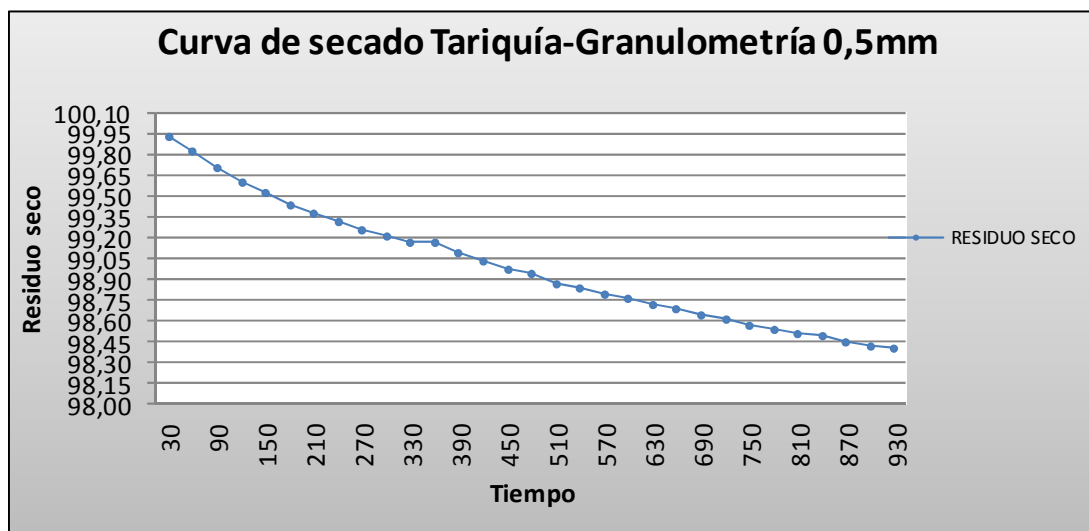
**Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 3.8** Curva de secado Volcán Blanco (0,5mm)



**Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 3.9** Curva de secado Tariquía (0,5mm)



**Fuente:** Elaboración propia.

**3.2.2.2. Análisis de los resultados de extracción de ceras, resinas e impurezas mecánicas.-** Los resultados obtenidos de la primera extracción por solvente n-Hexano, correspondiente a la extracción de ceras, son los siguientes:

**Tabla III-12** Resumen de ensayos para la extracción de ceras

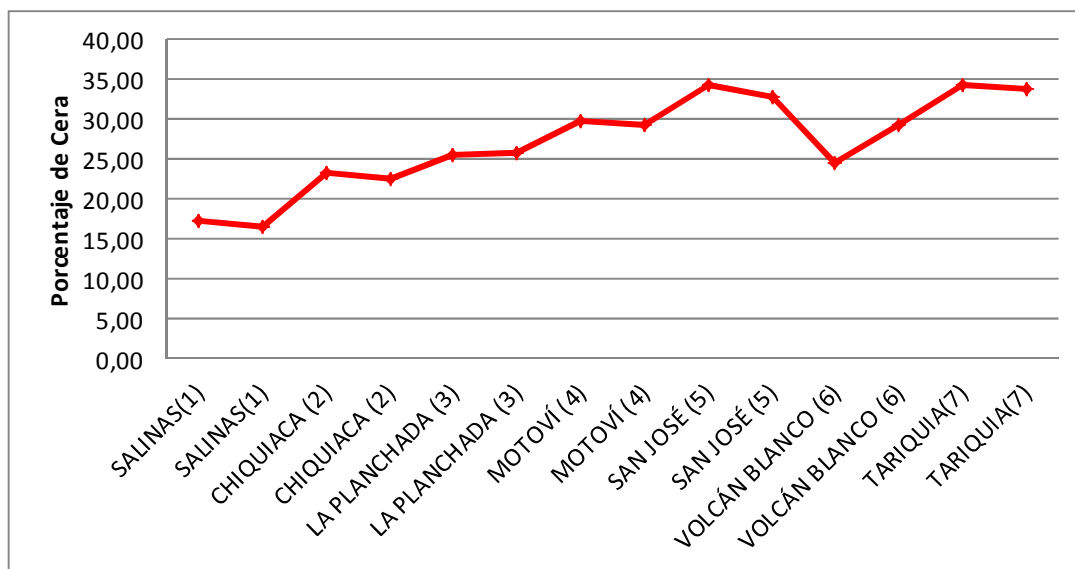
MUESTRA	% CERAS INDIVIDUAL	%CERAS PROMEDIO
SALINAS	17,36	16,97
	16,57	
CHIQUIACA	23,38	22,91
	22,44	
LA PLANCHADA	25,56	25,69
	25,83	
MOTOVÍ	29,89	29,57
	29,25	
SAN JOSÉ	34,41	33,57
	32,73	
VOLCÁN BLANCO	24,65	26,93
	29,21	
TARIQUIA	34,21	34,03
	33,85	

<b>PROMEDIO</b>	27,10
<b>MÍNIMO</b>	16,57
<b>MÁXIMO</b>	34,41
<b>RANGO</b>	17,84

**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 3.10** Gráfica de los distintos porcentajes de cera obtenidos de las 7 muestras de propóleos, más sus duplicados.



**Fuente:** Elaboración propia

De este análisis se tiene como datos que el promedio de la concentración de ceras de las 7 muestras es de 27,10 %, teniendo como concentración mínima un 16,57% y como máxima un 34,41 %, lo que nos da un rango de variación para este parámetro de 17,84%., lo que está dentro de lo estipulado por Bedascarrasbure, Maldonado, Fierro y Álvarez (2006 Pág. 22). y que para una composición genérica de propóleos se tiene entre un 30 a 40%. Y es más, este análisis nos da a conocer las virtudes que puede tener el propóleos de esta región, ya que hasta el momento mostró bajo contenido de agua y de ceras que vienen a ser juntamente con las impurezas la parte inerte para los fines que se busca que es aislar los principios activos del propóleos, los mismos que se concentran en las resinas del mismo, por lo que a continuación se analizará de manera detenida los resultados obtenidos en la extracción de las resinas de cada una de las muestras analizadas, y cuyo resumen se detalla en la tabla III-3 la misma que se muestra a continuación.

**Tabla III-13** Resumen de los resultados obtenidos de la segunda extracción por solvente del propóleos mediante Etanol, correspondiente a la extracción de resinas.

MUESTRA	% RESINAS INDIVIDUAL	% RESINAS PROMEDIO
SALINAS	53,86	53,52
	53,18	
CHIQUIACA	59,14	59,26
	59,38	
LA PLANCHADA	54,06	52,45
	50,84	
MOTOVÍ	46,56	45,66
	44,77	
SAN JOSÉ	40,04	42,02
	44,01	
VOLCÁN BLANCO	37,55	36,82
	36,09	
TARIQUIA	34,76	36,97
	39,19	

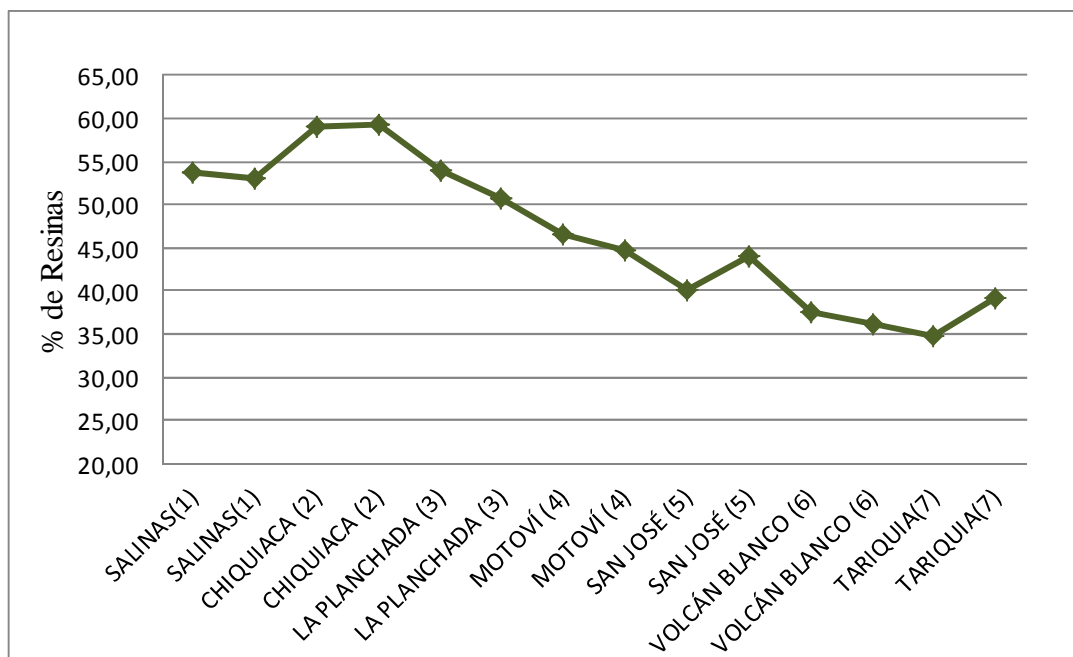
<b>PROMEDIO</b>	46,67
<b>MÍNIMO</b>	34,76
<b>MÁXIMO</b>	59,38
<b>RANGO</b>	24,62

**Fuente:** Elaboración propia.

De este análisis se tiene como datos que el promedio de la concentración de resinas de las 7 muestras es de 46.67 %, teniendo como concentración mínima un 34,76% correspondiente a la muestra de Tariquía y como máxima un 59,38 % correspondiente a la muestra de Chiquiacá, lo que nos da un rango de variación para este parámetro de 24,62%: de este análisis quedó claro que las concentraciones de resinas en las muestras, presentan un rango de variación muy amplio, como se puede apreciar de manera gráfica en la figura 3.11, por lo que se decidió, como se mencionó en el capítulo II, tomar en cuenta este parámetro como variable para el diseño factorial; por otro lado, es muy evidente que todas las muestras muestran buenas concentraciones de resinas lo que nos deja claro el potencial que tienen estas muestras en lo que son las cantidades de principios activos como dato principal y relevante para determinar la calidad del propóleos de la reserva nacional de flora y fauna de Tariquía, como materia prima para todos los subproductos del mismo y sobre todo el que nos

concierno en este estudio la tintura madre de propóleos, lo que está dentro de lo estipulado por Bedascarrasbure, Maldonado, Fierro y Álvarez (2006) Pág. 22. Ya que para una composición genérica de propóleos se tiene entre un 30 a 40%.

**Figura 3.11** Gráfica de los distintos porcentajes de resina obtenidos de las 7 muestras de propóleos, más sus duplicados.



**Fuente:** Elaboración propia

La tabla III-14 nos resume de forma detallada los valores obtenidos para poder analizarlos y nos muestra que el promedio de impurezas mecánicas alcanza un 24,77%, que aportaron un mínimo de 15,85% correspondiente a la muestra de Chiquiacá y un máximo de 37,19% correspondiente a la muestra de Volcán Blanco, los mismos que nos dejan un rango de variación de concentraciones de impurezas de 21,33%; además, de manera lógica, las muestras con mayor concentración de resinas son las que tienen menor concentración de impurezas mecánicas.

Como se mencionó con anterioridad, estas concentraciones representan fracciones que para los fines que se persiguen se consideran inertes.

**Tabla III-14** Resumen de los resultados obtenidos de impurezas mecánicas como residuo de las extracciones de ceras y resinas.

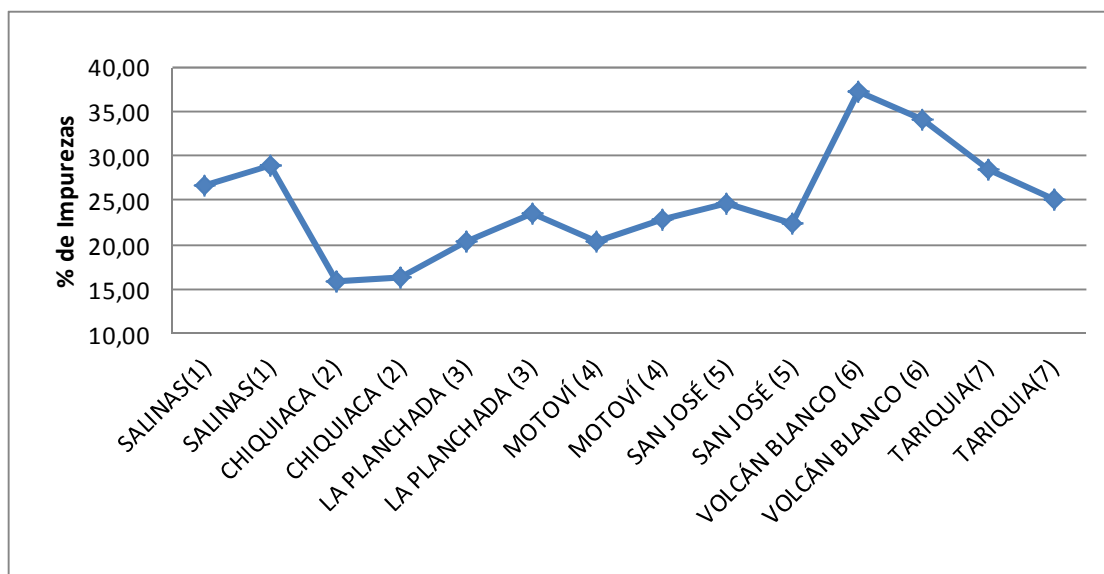
MUESTRA	%IMPUREZAS INDIVIDUAL	%IMPUREZAS PROMEDIO
SALINAS	26,73	27,81
	28,89	
CHIQUIACA	15,85	16,04
	16,22	
LA PLANCHADA	20,40	21,90
	23,41	
MOTOVÍ	20,42	21,66
	22,91	
SAN JOSÉ	24,69	23,49
	22,30	
VOLCÁN BLANCO	37,19	35,68
	34,17	
TARIQUIA	28,48	26,80
	25,11	

PROMEDIO	24,77
MÍNIMO	15,85
MÁXIMO	37,19
RANGO	21,33

Fuente: Elaboración propia

**Figura 3.12** Gráfica de los distintos porcentajes de impurezas mecánicas obtenidos de las 7 muestras de propóleos, más sus duplicados.



Fuente: Elaboración propia.

A continuación, se compendian los datos obtenidos, de las composiciones finales de las muestras de propóleos bruto; dichos datos se muestran en las siguientes tablas:

**Tabla III-15** Resultados finales de las composiciones del análisis del propóleos bruto, correspondiente a las muestras de Salinas y Chiquiacá.

	SALINAS(1)	SALINAS(1)	CHIQUIACA (2)	CHIQUIACA (2)
<b>% HUMEDAD</b>	<b>1,93</b>	<b>1,97</b>	<b>1,19</b>	<b>1,21</b>
<b>% CERAS</b>	<b>17,36</b>	<b>16,57</b>	<b>23,38</b>	<b>22,44</b>
<b>% RESINAS</b>	<b>53,86</b>	<b>53,18</b>	<b>59,14</b>	<b>59,38</b>
<b>% IMPUREZAS</b>	<b>26,73</b>	<b>28,89</b>	<b>15,85</b>	<b>16,22</b>
<b>% TOTAL</b>	<b>99,90</b>	<b>100,61</b>	<b>99,57</b>	<b>99,25</b>

**Fuente:** Elaboración propia.

**Tabla III-16** Resultados finales de las composiciones del análisis del propóleos bruto, correspondiente a las muestras de La Planchada y Motoví.

	LA PLANCHADA (3)	LA PLANCHADA (3)	MOTOVÍ (4)	MOTOVÍ (4)
<b>% HUMEDAD</b>	<b>0,77</b>	<b>0,82</b>	<b>2,84</b>	<b>2,92</b>
<b>% CERAS</b>	<b>25,56</b>	<b>25,83</b>	<b>29,89</b>	<b>29,25</b>
<b>% RESINAS</b>	<b>54,06</b>	<b>50,84</b>	<b>46,56</b>	<b>44,77</b>
<b>% IMPUREZAS</b>	<b>20,40</b>	<b>23,41</b>	<b>20,42</b>	<b>22,91</b>
<b>% TOTAL</b>	<b>100,82</b>	<b>100,88</b>	<b>99,74</b>	<b>99,81</b>

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla III-17** Resultados finales de las composiciones del análisis del propóleos bruto, correspondiente a las muestras de San José, Volcán Blanco y Tariquía

	SAN JOSÉ (5)	SAN JOSÉ (5)	VOLCÁN BLANCO (6)	VOLCÁN BLANCO (6)	TARIQUIA(7)	TARIQUIA(7)
% HUMEDAD	1,77	1,79	1,12	1,16	1,63	1,57
% CERAS	34,41	32,73	24,65	29,21	34,21	33,85
% RESINAS	40,04	44,01	37,55	36,09	34,76	39,19
% IMPUREZAS	24,69	22,30	37,19	34,17	28,48	25,11
% TOTAL	100,91	100,81	100,53	100,61	99,06	99,74

**Fuente:** Elaboración propia.

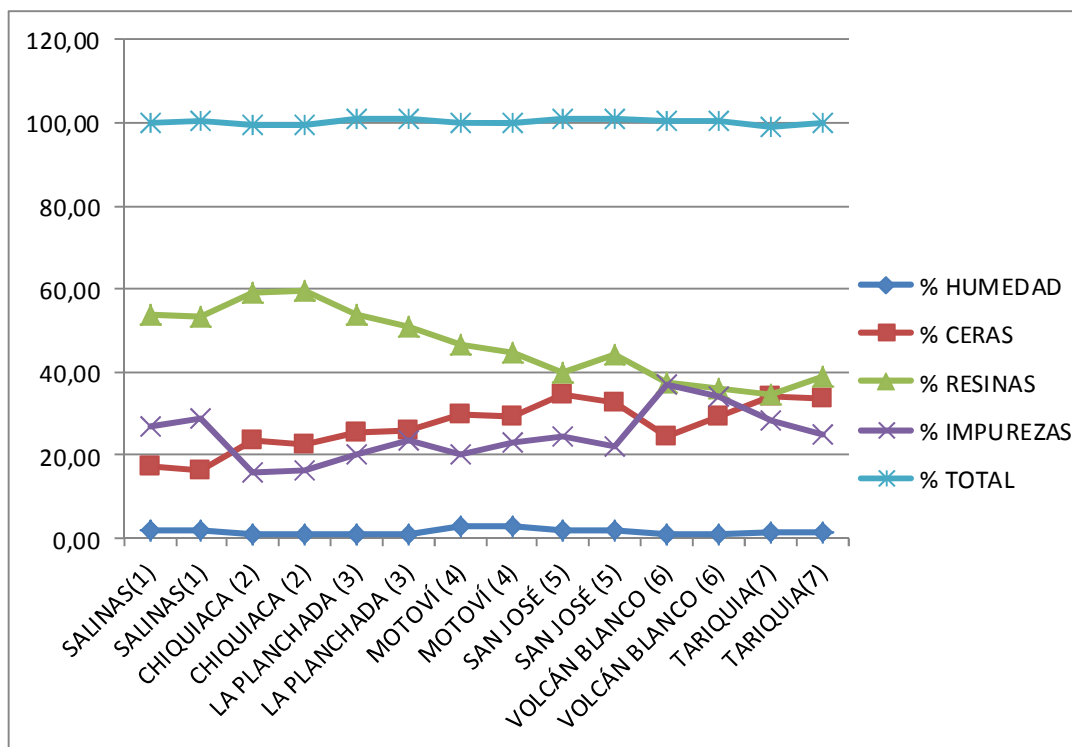
En las tablas anteriores se hace una síntesis de las composiciones totales de las muestras de propóleos bruto; sin embargo, es la figura 3.13 la herramienta que nos permite hacer múltiples análisis, por la facilidad que nos brinda para analizar gran cantidad de información y sus interacciones; los análisis más importantes se detallan a continuación:

Como uno de los criterios de análisis más importantes que se incluye en esta gráfica está el total porcentual de la suma de los porcentajes de todos los parámetros medidos como evidencia de que las determinaciones fueron realizadas de manera correcta y con el mayor de los cuidados, en todos los casos alcanza o está muy próximo al 100%.

Por otro lado, se nota la supremacía de concentración de las resinas para todas las muestras y se evidencian que los rangos de variación de los distintos parámetros están alrededor del 20%, a excepción del de humedad, ya que la concentración de este parámetro es muy pequeño.



**Figura 3.13** Gráfica de las composiciones porcentuales de las muestras de propóleos analizados



**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.2.3. Análisis de resultados de los ensayos de la tintura madre de Propóleos

#### 3.2.3.1. Extracto seco

Este es un ensayo muy importante dentro de lo que son las variables respuesta del diseño factorial llevado a cabo, por lo que se hará un análisis minucioso de los resultados.

En la tabla III-18 se muestra un resumen de los resultados obtenidos del ensayo, más un detalle de las composiciones de las que se partió en cada ensayo; pero para un análisis más profundo y comparativo, se elaborarán gráficas, con el fin de mostrar de manera más fácil los efectos de cada una de las variables dentro del proceso extractivo. Comenzaremos evaluando el grado alcohólico, en la tabla III-19.

**Tabla III-18** Resumen de los datos obtenidos del ensayo de residuo seco, el mismo que se llevó cabo en el CEANID.

	<b>EXTRACTO SECO</b> g/100 ml	<b>RENDIMIENTO</b>	<b>PORCENTAJE DE PROPOLEO (P/V)</b>		<b>GRADO ALCOHOLICO</b> (° Gay Lussac)	<b>% DE RESINAS</b>
<b>1</b>	5,161	5,714	10	%	70	30
<b>2</b>	4,254	4,722	10	%	70	40
<b>3</b>	5,782	6,364	10	%	70	50
<b>4</b>	12,383	13,220	25	%	70	30
<b>5</b>	12,525	12,784	25	%	70	40
<b>6</b>	12,701	13,774	25	%	70	50
<b>7</b>	20,949	22,451	50	%	70	30
<b>8</b>	22,491	23,625	50	%	70	40
<b>9</b>	25,203	26,344	50	%	70	50
<b>10</b>	5,614	6,386	10	%	80	30
<b>11</b>	6,089	6,804	10	%	80	40
<b>12</b>	6,577	7,433	10	%	80	50
<b>13</b>	12,008	13,531	25	%	80	30
<b>14</b>	11,137	12,279	25	%	80	40
<b>15</b>	15,843	17,798	25	%	80	50
<b>16</b>	23,798	25,591	50	%	80	30
<b>17</b>	21,596	23,424	50	%	80	40
<b>18</b>	29,131	31,027	50	%	80	50
<b>19</b>	4,873	5,778	10	%	96	30
<b>20</b>	6,351	7,641	10	%	96	40
<b>21</b>	6,372	7,559	10	%	96	50
<b>22</b>	12,169	14,400	25	%	96	30
<b>23</b>	11,608	13,693	25	%	96	40
<b>24</b>	15,261	17,830	25	%	96	50
<b>25</b>	23,181	25,996	50	%	96	30
<b>26</b>	21,957	24,666	50	%	96	40
<b>27</b>	28,743	31,350	50	%	96	50
<b>28</b>	9,019	14,163	Laboratorios Loghman			
<b>29</b>	10,726	12,390	AARNFFT			

**Fuente:** Elaboración propia.

**Tabla III-19** Valores comparativos de extracto seco en función de la variación del grado alcohólico.

PORCENTAJE (P/V) DE PROPOLEO- % DE RESINAS	GRADO ALCOHOLICO (° Gay Lussac)			REFERENCIAS	
	70	80	96	LOGHMAN	AARNFFT
10-30	5,161	5,614	4,873	9,019	10,726
10-40	4,254	6,089	6,351	9,019	10,726
10-50	5,782	6,577	6,372	9,019	10,726
25-30	12,383	12,008	12,169	9,019	10,726
25-40	12,525	11,137	11,608	9,019	10,726
25-50	12,701	15,843	15,261	9,019	10,726
50-30	20,949	23,798	23,181	9,019	10,726
50-40	22,491	21,596	21,957	9,019	10,726
50-50	25,203	29,131	28,743	9,019	10,726

**Fuente:** Elaboración propia.

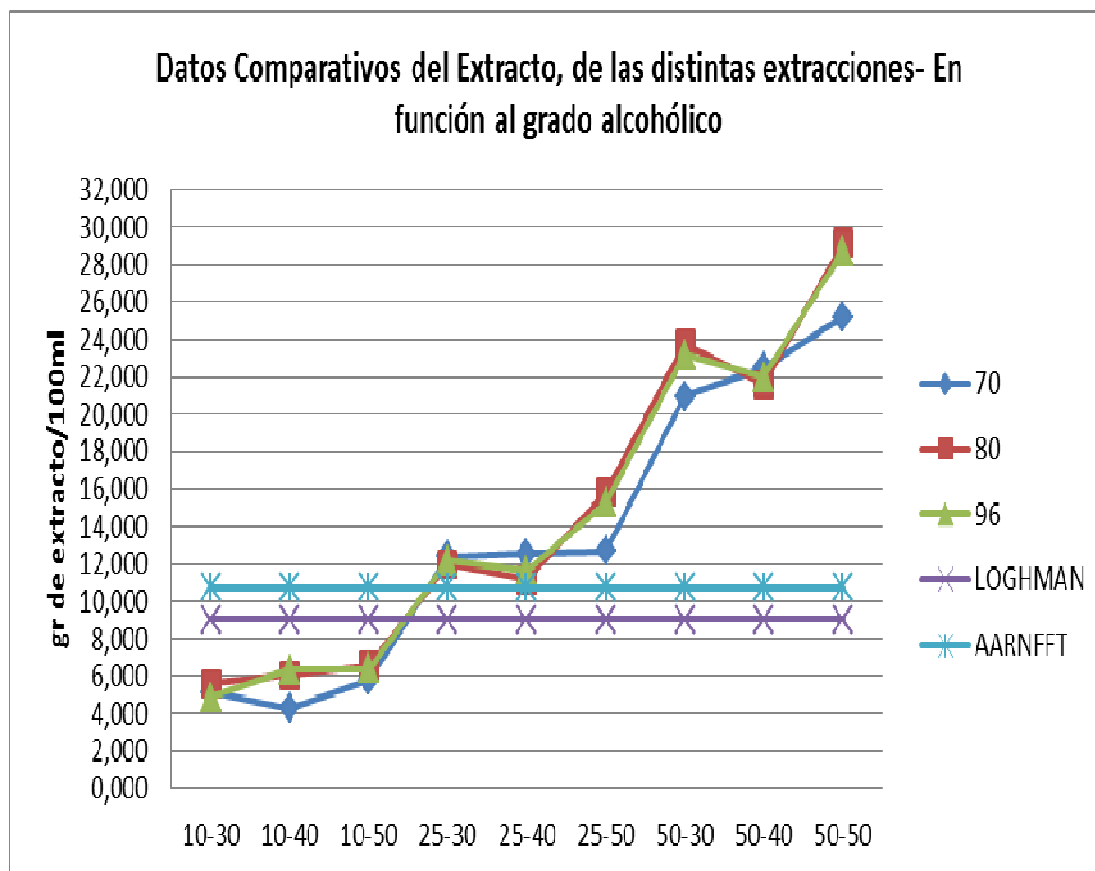
En la tabla III-19 se ordenan los resultados de extracto seco de manera tal que sean fácilmente comparables los procesos extractivos de los 27 ensayos, pero tomando en cuenta la variación de la variable respuesta extracto seco en función a un sola variable que es el grado alcohólico; sin embargo, es mucho más fácil analizar este comportamiento en la figura 3.14 en la que se nota claramente que en términos de extracción, existe una notable mejora de la misma con las soluciones de 80 y 96 ° Gay Lussac, con respecto a la de 70 ° Gay Lussac, pero entre los solventes de 80 y 96 ° Gay Lussac, el extracto seco extraído se puede considerar prácticamente igual.

Como análisis complementario se realizó la misma distribución de la tabla III-19, y Figura 3-14, con la diferencia que en esta oportunidad se tomó en cuenta como variable respuesta el rendimiento de la extracción, los resultados se muestran en la tabla III-20 y la figura 3-15, las mismas se muestran a continuación.

Se muestra claramente que en términos de extracción, existe una notable mejora de la misma con las soluciones de 80 y 96 ° Gay Lussac, con respecto a la de 70 ° Gay

Lussac, pero entre los solventes de 80 y 96 ° Gay Lussac, los rendimientos de extracción se pueden considerar prácticamente iguales.

**Figura 3-14** Gráfica de los valores comparativos de extracto, en función del grado alcohólico del solvente.



**Fuente:** Elaboración propia.

Es decir, que dejando los parámetros porcentaje de resinas y proporción propóleos solvente fijos, y si solo hacemos variar las concentraciones alcohólicas se tienen dos conclusiones importantes:

La extracción 70° Gay Lussac tiene una marcada desventaja;

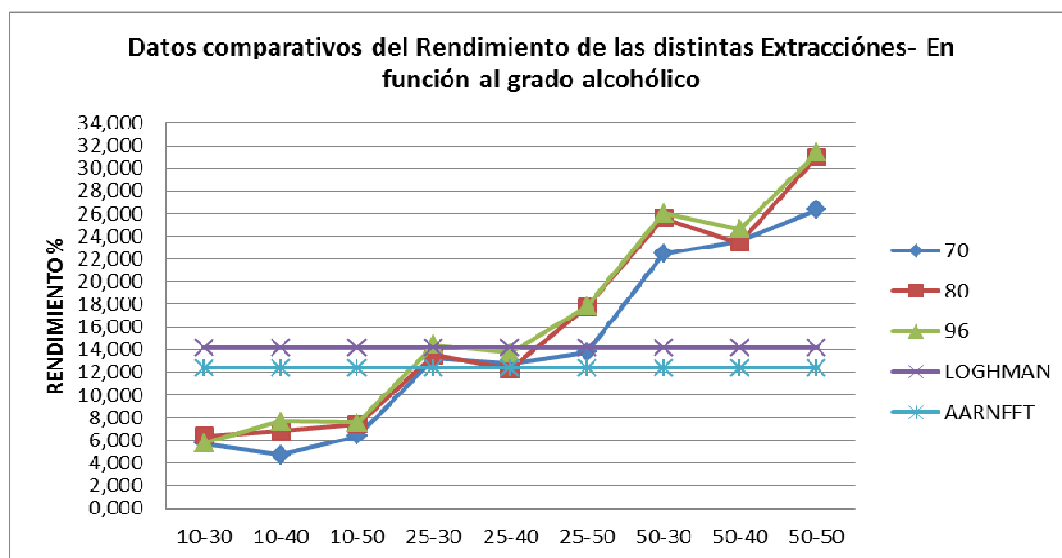
Mientras que las extracciones con alcohol 80 y 96° Gay Lussac, son iguales.

**Tabla III-20** Valores comparativos de rendimiento de la extracción en función de la variación del grado alcohólico.

PORCENTAJE(P/V)DE PROPOLEO- % DE RESINAS	GRADO ALCOHOLICO (º Gay Lussac)			REFERENCIAS	
	70	80	96	LOGHMAN	AARNFFT
10-30	5,714	6,386	5,778	14,163	12,390
10-40	4,722	6,804	7,641	14,163	12,390
10-50	6,364	7,433	7,559	14,163	12,390
25-30	13,220	13,531	14,400	14,163	12,390
25-40	12,784	12,279	13,693	14,163	12,390
25-50	13,774	17,798	17,830	14,163	12,390
50-30	22,451	25,591	25,996	14,163	12,390
50-40	23,625	23,424	24,666	14,163	12,390
50-50	26,344	31,027	31,350	14,163	12,390

Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-15** Gráfica de los valores comparativos de rendimiento, en función del grado alcohólico del solvente.



Fuente: Elaboración propia

Siguiendo con el análisis del proceso extractivo, se sigue una metodología parecida a la anterior con la diferencia que en este caso se mantienen constantes los parámetros de grado alcohólico y porcentaje de resinas y se hace variar el porcentaje de propóleos, como se muestra en la tabla III-21, con más claridad en la figura 3-16 las mismas que son correspondientes al análisis tomando como variable respuesta el extracto seco.

**Tabla III-21** Valores comparativos de extracto seco en función de la variación del porcentaje de propóleos utilizado para la extracción.

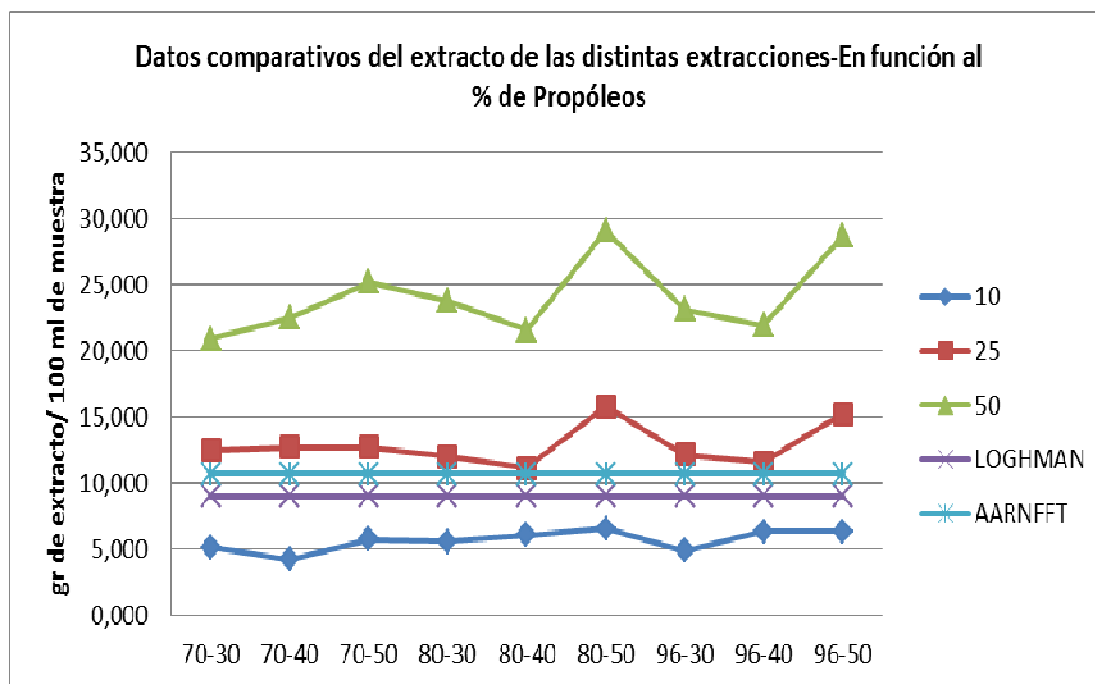
GRADO ALCOHOLICO (° Gay Lussac)- % DE PROPÓLEOS	PORCENTAJE DE PROPOLEO (P/V)			REFERENCIAS	
	10	25	50	LOGHMAN	AARNFFT
70-30	5,161	12,525	20,949	9,019	10,726
70-40	4,254	12,701	22,491	9,019	10,726
70-50	5,782	12,701	25,203	9,019	10,726
80-30	5,614	12,008	23,798	9,019	10,726
80-40	6,089	11,137	21,596	9,019	10,726
80-50	6,577	15,843	29,131	9,019	10,726
96-30	4,873	12,169	23,181	9,019	10,726
96-40	6,351	11,608	21,957	9,019	10,726
96-50	6,372	15,261	28,743	9,019	10,726

**Fuente:** Elaboración propia

Analizando los resultados obtenidos, se nota claramente que las curvas correspondientes para cada porcentaje de propóleos, son paralelas entre sí y que responden de forma lineal al aumento del porcentaje, lo que quiere decir que este parámetro no guarda alguna relación importante que vaya a ser predominante para la extracción.

Sin embargo, es importante resaltar que a mayor porcentaje de propóleos, se tendrá mayor extracción de principios activos; además, se nota claramente que hasta la proporción probada (50%) no alcanzó la saturación del solvente.

**Figura 3-16** Gráfica de los valores comparativos de extracto seco, en función del porcentaje de propóleos utilizado para la extracción.



**Fuente:** Elaboración propia

Como era de esperarse, se observa que como para el análisis con extracto seco, la situación no cambia en el análisis del rendimiento como se aprecia en la tabla III-22 y la figura 3-17, notándose incrementos casi lineales con respecto al porcentaje de propóleos que se utiliza en la extracción, y de la misma manera no se muestra una saturación del solvente.

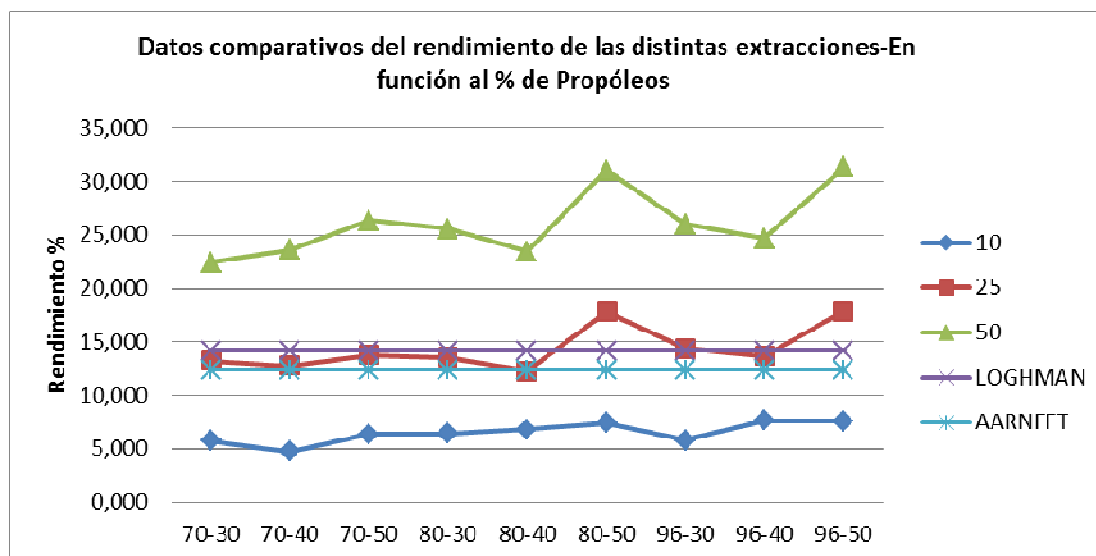
Además, como dato importante, se puede observar que las concentraciones de las muestras de referencias tienen concentraciones de extracto seco cercanas entre sí y que se encuentran alrededor de 10 gr/ 100 ml de muestra.

**Tabla III-22** Valores comparativos de rendimiento de la extracción en función de la variación del porcentaje de propóleos utilizado.

GRADO ALCOHOLICO (º Gay Lussac)- % DE PROPÓLEOS	PORCENTAJE DE PROPOLEO (P/V)			REFERENCIAS	
	10	25	50	LOGHMAN	AARNFFT
70-30	5,714	13,220	22,451	14,163	12,390
70-40	4,722	12,784	23,625	14,163	12,390
70-50	6,364	13,774	26,344	14,163	12,390
80-30	6,386	13,531	25,591	14,163	12,390
80-40	6,804	12,279	23,424	14,163	12,390
80-50	7,433	17,798	31,027	14,163	12,390
96-30	5,778	14,400	25,996	14,163	12,390
96-40	7,641	13,693	24,666	14,163	12,390
96-50	7,559	17,830	31,350	14,163	12,390

Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-17** Gráfica de los valores comparativos de rendimiento de la extracción, en función del porcentaje de propóleos utilizado.



Fuente: Elaboración propia



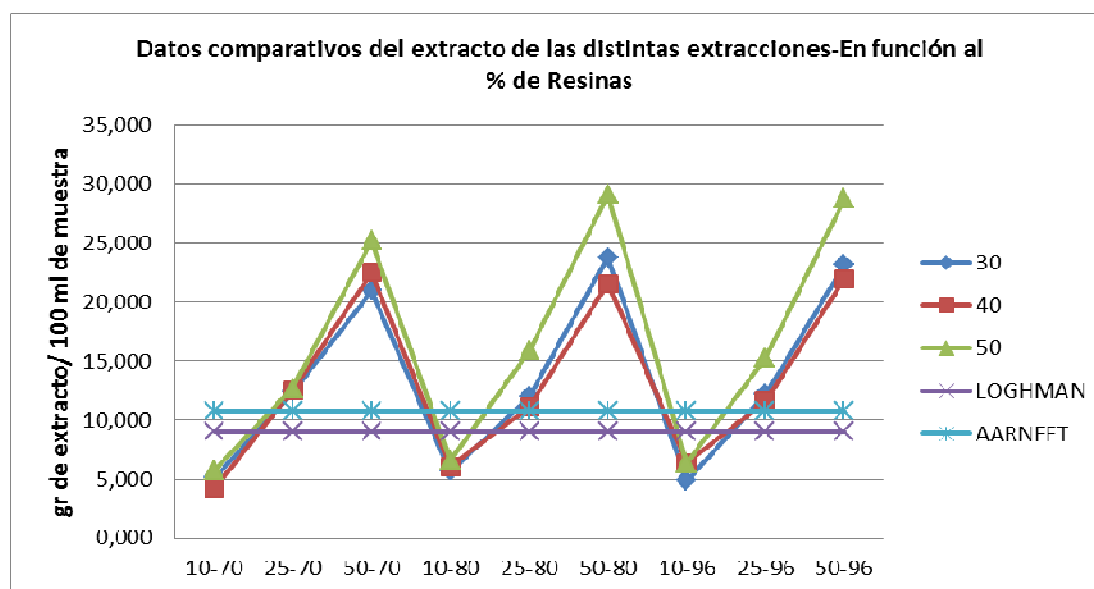
**Tabla III-23** Valores comparativos de extracto seco extraído en función de la variación del porcentaje de resinas contenido en el propóleo bruto.

% DE PROPÓLEOS-GRADO ALCOHOLICO (º Gay Lussac)	% DE RESINAS			REFERENCIAS	
	30	40	50	LOGHMAN	AARNFFT
10-70	5,161	4,254	5,782	9,019	10,73
25-70	12,383	12,525	12,701	9,019	10,73
50-70	20,949	22,491	25,203	9,019	10,73
10-80	5,614	6,089	6,577	9,019	10,73
25-80	12,008	11,137	15,843	9,019	10,73
50-80	23,798	21,596	29,131	9,019	10,73
10-96	4,873	6,351	6,372	9,019	10,73
25-96	12,169	11,608	15,261	9,019	10,73
50-96	23,181	21,957	28,743	9,019	10,73

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla III-23 y la grafica 3-18, se muestra el análisis de los resultados de extracto seco extraído, de

**Figura 3-18** Gráfica de los valores comparativos de extracto seco, en función del porcentaje de resinas contenido en el propóleo bruto.



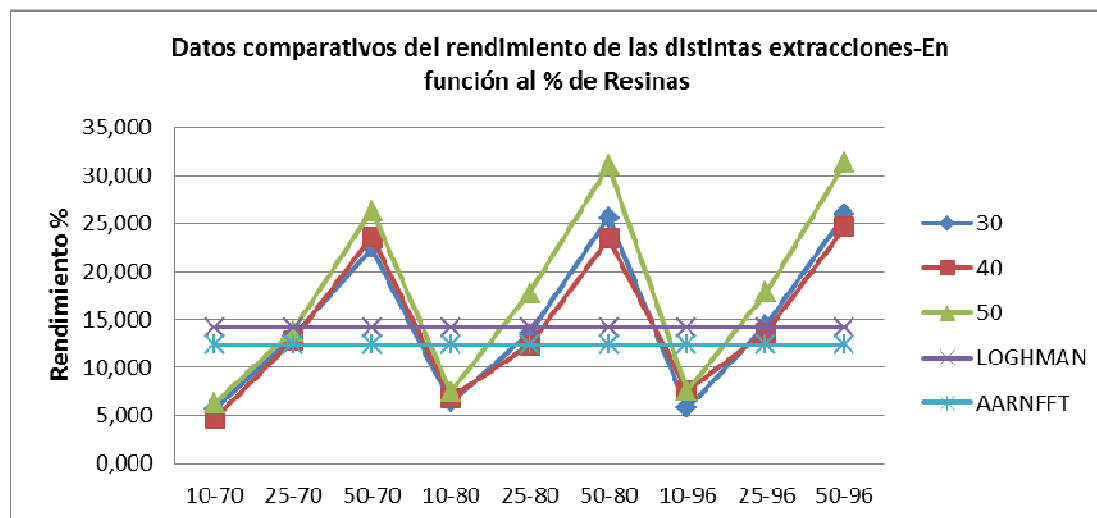
**Fuente:** Elaboración propia.

**Tabla III-24** Valores comparativos de rendimiento de la extracción en función de la variación del porcentaje de resinas contenido en el propóleo bruto.

% DE PROPÓLEOS-GRADO ALCOHOLICO (º Gay Lussac)	% DE RESINAS			REFERENCIAS	
	30	40	50	LOGHMAN	AARNFFT
10-70	5,714	4,722	6,364	14,163	12,39
25-70	13,220	12,784	13,774	14,163	12,39
50-70	22,451	23,625	26,344	14,163	12,39
10-80	6,386	6,804	7,433	14,163	12,39
25-80	13,531	12,279	17,798	14,163	12,39
50-80	25,591	23,424	31,027	14,163	12,39
10-96	5,778	7,641	7,559	14,163	12,39
25-96	14,400	13,693	17,830	14,163	12,39
50-96	25,996	24,666	31,350	14,163	12,39

**Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 3-18** Gráfica de los valores comparativos de rendimiento de la extracción, en función del porcentaje de resinas contenido en el propóleo bruto.



**Fuente:** Elaboración propia.

De las tablas III-23 Y III-24, y además de las figuras 3-17 y 3-18 se identifica que es un resultado que se esperaba, siendo un efecto muy similar al porcentaje de propóleos, y en esta gráfica también queda de evidencia que las extracciones con solvente a 80 y 90 ° Gay Lussac tienen rendimientos prácticamente iguales.

### 3.2.3.2. Análisis ANOVA de los resultados de la extracción

El análisis ANOVA o univariante, se lo realizó cargando todos los datos de la Tabla II-18 del presente trabajo, en la que se detalla todos los valores de las combinaciones del diseño factorial y variable respuesta, al programa SPSS, para hacer el análisis de los valores obtenidos de la variable respuesta. Los datos arrojados por este programa se resumen en los siguientes cuadros.

**Tabla III- 25** Factores inter-sujetos

		N
porcentaje peso/vol	-1.000	9
	.000	9
	1.000	9
grados Gay Lussac	-1.000	9
	.000	9
	1.000	9
Resina de propóleos	-1.000	9
	.000	9
	1.000	9

**Fuente:** Elaboración propia, programa SPSS

Del análisis de significancia según el modelo expresado en la tabla III- 26 inter-sujetos para un nivel de confianza de 95% se tiene un valor para  $\alpha$  máximo de 0,005 por lo que se puede descartar la interacción C\*RP para el modelo F por que muestra una significancia de 0,349 que es mayor que 0,005.

**Tabla III- 26** Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: rendimiento

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1792.431 <sup>a</sup>	18	99.579	90.840	.000
Intersección	6382.239	1	6382.239	5822.101	.000
PV	1600.486	2	800.243	730.010	.000
C	46.256	2	23.128	21.098	.001
RP	80.376	2	40.188	36.661	.000
PV * C	18.997	4	4.749	4.332	.037
PV * RP	40.636	4	10.159	9.267	.004
C * RP	5.679	4	1.420	1.295	.349
Error	8.770	8	1.096		
Total	8183.440	27			
Total corregida	1801.200	26			

a. R cuadrado = .995 (R cuadrado corregida = .984)

Después se realiza la simulación para el modelo T, para el cual la significancia debe ser menor de 0.0025, para un nivel de confianza del 95 %; a partir de esto se pueden descartar las otras dos interacciones ya que en los resultados que nos detalla la tabla III-27, tanto la significancia para la interacción PV\*C como la significancia de la interacción PV\*RP son notablemente mayores que 0,0025, por lo que al final del análisis ANOVA se puede determinar que las interacciones no son significativas, pero sí lo son las variables cantidad de propóleos(PV), porcentaje de resinas (PR), y grado alcohólico(C).

Además, se puede determinar el modelo matemático a partir de la tabla III-27 tomando en cuenta las variables significativas el mismo se expresa:

$$\text{Rendimiento} = 9,389 \text{ PV} + 1,499 \text{ C} + 1,467 \text{ RP}$$

**Tabla III- 27 Coeficientes<sup>a</sup>**

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.	Intervalo de confianza de 95.0% para B	
	B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	15.375	.444		34.632	.000	14.451	16.298
porcentaje peso/vol	9.389	.544	.939	17.268	.000	8.258	10.520
grados Gay Lussac	1.499	.544	.150	2.757	.012	.368	2.630
Resina de propóleos	1.467	.544	.147	2.699	.013	.337	2.598
PVC	1.040	.666	.085	1.562	.133	-.345	2.425
PVRP	.934	.666	.076	1.402	.175	-.451	2.319

a. Variable dependiente: rendimiento

Del modelo matemático se puede observar que es la cantidad de propóleos la variable más importante, ya que es la que afecta en mayor proporción al modelo matemático siendo su efecto unas 6 veces más importante que los factores de porcentaje de propóleos y grado alcohólico: pero esta es una realidad irrefutable y la vez lógica, porque al aumentar la cantidad de propóleos o concentración de resinas es lógico el incremento de la extracción, lo que si es importante y aunque no parezca significativo

en tema rendimiento, es el grado alcohólico, que si puede mejorar otras características, también importantes como lo son el sabor, por ejemplo.

#### 3.2.4 Control de calidad del producto **obtenido**

Es necesario llevar a cabo estos análisis ya que no es sólo importante extraer, sino que también es importante poder verificar que se extrajeron los principios activos, que son los que interesan como principales componentes de la tintura madre de propóleos.

##### 3.2.4.1. **Índice de Oxidación**

Como se puede apreciar en el la tabla II-23, en la que se detallan todos los resultados de las 27 muestras más las dos muestras de referencia, todos los resultados de índice de oxidación están muy por debajo de lo establecido por las normas japonesa, brasilera y argentina, que establecen como tiempo máximo para el índice de oxidación en 22 segundos, y como se reflejan en los resultados, los índices de oxidación de todas las muestras son muy próximos, pero reflejan excelentes características oxidantes, lo que nos da un resultado positivo sobre la presencia de flavonoides en todas las muestras.

##### 3.2.4.2. **Determinación del espectrograma de absorción en el UV**

En los datos de la tabla III-28, se nota claramente que las diluciones más bajas, es decir, las más diluidas, para entrar en los valores para la absorbancia correcta, lo que da a suponer que estas son las soluciones con más compuestos activos extraídos, las mismas son las soluciones que utilizaron como solvente el alcohol con 80° Gay Lussac, alcanzándose una calidad muy similar a la tintura de los propóleos de los laboratorios Loghman, tanto en dilución, como en absorbancia, lo que puede ser una importante señal para determinar los mejores parámetros para la extracción, tomando en cuenta todos los factores y no solo el rendimiento.

**Tabla III-28** Resumen de los picos máximos del barrido espectral, además los datos de la longitud de onda del pico y la dilución que se realizó.

BOTELLAS	PORCENTAJE DE PROPOLEO (P/V)		GRADO ALCOHOLICO (º Gay Lussac)	% DE RESINAS	SOLUCIÓN	LONGITUD DE ONDA A MÁXIMA ABSORBANCIA	MÁXIMA ABSORBANCIA
1	10	%	70	30	1/1250	298	0,652
2	10	%	70	40	1/1250	280	0,576
3	10	%	70	50	1/1250	280	0,648
4	25	%	70	30	1/3125	298	0,952
5	25	%	70	40	1/1250	280	0,834
6	25	%	70	50	1/1250	280	0,813
7	50	%	70	30	1/3125	298	0,931
8	50	%	70	40	1/1125	280	0,948
9	50	%	70	50	1/4166	280	0,969
10	10	%	80	30	1/2500	298	0,631
11	10	%	80	40	1/2500	280	0,569
12	10	%	80	50	1/2500	280	0,590
13	25	%	80	30	1/4166	298	0,680
14	25	%	80	40	1/2083	280	0,575
15	25	%	80	50	1/3571	280	0,547
16	50	%	80	30	1/5000	298	0,980
17	50	%	80	40	1/6250	280	0,726
18	50	%	80	50	1/6250	280	0,698
19	10	%	96	30	1/1250	298	0,652
20	10	%	96	40	1/1250	280	0,681
21	10	%	96	50	1/1250	282	0,723
22	25	%	96	30	1/3125	298	0,673
23	25	%	96	40	1/3125	280	0,740
24	25	%	96	50	1/3125	280	0,761
25	50	%	96	30	1/5000	298	0,708
26	50	%	96	40	1/5000	280	0,632
27	50	%	96	50	1/6250	280	0,604
28	Laboratorios Loghman				1/6250	300	0,892
29	AARNFFT				1/2500	282	0,676

**Fuente:** Elaboración propia

### **3.3. Discusión Miel de Abejas**

Hablando en primera instancia de la miel de abejas, se puede apreciar que hay una gran cantidad de pormenores al momento de interpretar un análisis físico químico de miel de abejas, basados en la variedad tanto de orígenes palinológicos, como clima, temperatura, tipo de extracción, época del año, etc. Al igual que las características típicas de la miel como lo son el color, la fluidez, sabor, que en menor proporción son también útiles para ayudar a la caracterización al momento de tener que hacer el análisis de los datos.

Lo que nos mueve a pensar que no se puede llegar a determinar la calidad de ninguna muestra de miel en tanto no tenga las muestras con todos los datos de relevancia como en nuestro caso que se documentó la información relevante, por lo que se considera de mucha importancia la compilación de estos datos para poder determinar con certeza la calidad, detección correcta de falencias y las acciones también correctas de mejora que se pueden tener en cuanto al potencial que puede tener esta zona, con producciones bien valoradas y con mejoras continuas en su cadena productiva, que vengan a mostrar en pleno el potencial que puede tener como producto, para cumplir normativas internacionales que ayuden para abrir mercados al exterior que a la vez darán vida a esta actividad.

Por lo que se recomienda capacitar tanto a los productores, como a los analistas sobre estos puntos, para lo cual se debería implementar una ficha evaluativa que debe ser diseñada con todos los detalles importantes, para que al ser llenada sean bien interpretadas posibles desviaciones que no sean siempre causadas por el potencial apícola de la región, sino más bien por operaciones que vienen a desfavorecer dicho potencial.

A la vez que dicha información se puede etiquetar en mieles con características iguales para poder organizarlas por lotes que vayan a ser identificados por los consumidores y así poder llenar mejor sus expectativas.



### **3.4. Discusión Extracción de Tintura madre de Propóleos**

Al momento de valorar todos los datos obtenidos en la extracción de tintura madre de propóleos, es importante resaltar la complejidad del proceso de elaboración en el cual si bien vamos a determinar los parámetros técnicos, para su extracción óptima, es también muy importante describir las dificultades operativas por las que se atraviesa para obtener la tintura madre, la cual comienza con un manejo o acondicionamiento del propóleos, que por su consistencia maleable y pegajosa, es muy difícil hacer una molienda a gran escala, ya que la única forma de lograr con éxito dicho afán es lograr la molienda a muy bajas temperaturas, lo cual en este caso, se logró con moliendas y refrigeraciones sucesivas, pero con muy poca cantidad lo que hace de esta labor muy complicada y principalmente morosa.

Otra de las grandes dificultades operativas es el proceso de filtrado, tanto el filtrado ambiental, grueso a temperatura ambiente, que se hace muy sensible a bajas temperaturas por el congelamiento de ceras en la superficie filtrante, y peor aún en el filtrado a bajas temperaturas donde se llegó a usar entre 5 y 6 papeles filtro por cada 100 ml de tintura madre. Lo que convirtió a esta tarea, sin duda, en el proceso más complicado del proceso.

Al momento de nombrar las dificultades operativas, es importante destacar en ellas la opción de mejora con el diseño de procesos o diseño de equipos que vengan a mejorar estas etapas como pasos fundamentales en la elaboración de tintura madre; en tanto se analiza las opciones, se puede pensar en un escaldado inicial que venga a remover a las conflictivas ceras, pero es preciso determinar más detalles temperatura del escaldado, tiempo, efectos adversos, etc.

Una vez expuestas las dificultades operativas, se pasará a describir un análisis de los resultados obtenidos:

- Propóleos bruto con excelentes características tanto organolépticas como químicas.

- Tanto el secado como la extracción del propóleo tiene mejores resultados en granulometrías de 0,5 mm.
- La extracción alcohólica de la tintura, en términos de rendimientos, muestra ventajas entre las concentraciones de alcohol en los solventes, siendo las de 80 y 96° Gay Lussac notablemente superiores que la de 70° Gay Lussac; éstas, a su vez, no presentan diferencias considerables.
- Las extracciones con solvente a 80° Gay Lussac muestran mejores resultados en los ensayos de calidad del extracto, es decir, que en esta concentración se extraen mejor los principios activos del propóleo.

## **BIBLIOGRAFÍA**

## BIBLIOGRAFÍA

**Alcala, M. (1977).** *Actividad del agua de la miel y crecimiento de microorganismos osmotolerantes.* Trabajos científicos de la Universidad de Córdoba, fecha de consulta junio 2008, **de:**

[http://biblioteca.universia.net/html\\_bura/ficha/params/title/actividad-agua-miel-crecimiento-microorganismos-osmotolerantes/id/55527105.html](http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/title/actividad-agua-miel-crecimiento-microorganismos-osmotolerantes/id/55527105.html)

**Alcala, M. y Gómez, R. (1990).** *Cálculo de la actividad de agua de la miel.* Alimentación, Equipos y Tecnología, fecha de consulta 25 mayo 2008, **de:**

<http://dialet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=88275>

**Adams, M.R. Y Moss, M.O. (1997).** *Microbiología de los Alimentos.* Mayo 2008, fecha de consulta mayo de 2008, **de:**

[http://openlibrary.org/books/OL13189853M/Microbiología\\_de\\_los\\_alimentos](http://openlibrary.org/books/OL13189853M/Microbiología_de_los_alimentos)

**Anónimo (1986).** *Propiedades de la miel de abejas.* Fecha de consulta junio 2008

**De:**<http://www.américa.edu.pe/gen/index.php?propiedades-de-la-miel-de-abeja-propoleo-y-polen=85>

**Anónimo. (2003).** *Calidad de la miel de abejas.* Fecha de consulta:Mayo 2998, **de:**

<http://revistadelconsumidor.gob.mx>

**AOAC. (2000).** *Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Virginia.* Fecha de consulta mayo 2008, **de:** <http://www.findpdf.net/books/about-AOAC-honey-dowload.htm>

**AOAC. (2003).** *Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Revision 2. Volume II. Food composition; Aditives; Natural contaminantes.*

Fecha de consulta: mayo 2008, **de:** <http://www.findpdf.net/books/about-AOAC-honey-dowload.htm>

**AOAC. (1990).** *Official Methods of Analysis of AOAC International.* Fecha de consulta: mayo 2008, **de:** <http://www.findpdf.net/books/about-AOAC-honey->

download.htm

**Balanza, M.E. (2003).** *Parámetros Físicos y Químicos de Relevancia para La Tipificación de la Miel Producida en la Provincia de Mendoza (Argentina)*. Tesis Doctoral, Instituto universitario de ingeniería de alimentos para el desarrollo, Universidad politécnica de Valencia. Valencia (España).

**Barrera, D.(2008).** *El Mercado de la miel a fines de 2008*. [ libro en línea].Oficina de estudios y políticas agrarias(ODEPA). Fecha de consulta: Agosto de 2009. Disponible en: <http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/publicaciones/doc/2199.pdf>

**Basulto, J.(2008).***La miel de abejas y sus propiedades nutricionales*.28 de mayo de 2008, de:

[http://www.Haztevegetariano.com/p/839/la\\_miel\\_de\\_abeja\\_y\\_sus\\_propiedades\\_nutricionales](http://www.Haztevegetariano.com/p/839/la_miel_de_abeja_y_sus_propiedades_nutricionales).

**Dr. Moisés Asis.(2006).** *Apiterapia para todos* [Libro En Línea] Editado en México por la Tía Trini, S.A. de C.V. (Portal Apícola). Fecha de consulta: 25 de abril de 2008. Disponible en <http://www.tiatrini.com.mx>

**Enrique Bedascarrasbure, Luis Maldonado, Walter Fierro Morales, Alejandro Álvarez. (2006).** *Propóleos, caracterización y normalización de propóleos argentinos, revisión y actualización de composición y propiedades*. Editorial Magna 1ª ed. Tucumán-Argentina.

**Esteban G. Dussart e Yves Bartolomé (Octubre de 2007)** *Taller Elaboración De Subproductos de la miel y las colmenas* [Libro En Línea] (IICA-Instituto Interamericano De Cooperación Para La Agricultura). Fecha de consulta: 23 de Mayo de 2008. Disponible en: [www.iica.int/niEstudios\\_PDFSubproductos](http://www.iica.int/niEstudios_PDFSubproductos)

**IBCE (2010).** Perfil de mercado Miel de abejas Nativas. [Artículo en línea],pp 12. Fecha de consulta: mayo de 2010. Disponible en: [www.ibce.org.bo](http://www.ibce.org.bo)

**IBNORCA (2006).** *NB 38023 Miel-Requisitos*. Editorial IBNORCA

**IBNORCA (2006).** *NB 38024 Miel-Muestreo*. Editorial IBNORCA

**IBNORCA (2006).** NB 38038 *Miel-Buenas prácticas de higiene y de procesamiento*. Editorial IBNORCA.

**Luciana Prandin (2008)**, *Instituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (Italia)*, Vía Romea 14/A, 35020, Fecha de consulta 23 de Mayo de 2008.

**Revollo y asociados (2011).** *Productos naturales y apícolas Rebollo y asociados*. [Artículo en línea]. pp. 1-9. Fecha de consulta: 11 de junio 2008. Disponible en: [www.pronara.com.mx/componentes.php](http://www.pronara.com.mx/componentes.php).

**Rodrigo Navarro, Marcela Aguilera y Félix Bórquez. (2009).** *Desarrollo de productos a base de propóleos proyecto de innovación en IX Región de la araucanía (Chile)*. Editorial Ograma Ltda. 1ª ed. Santiago de Chile

**Root A.I. (2008).** *ABC y XYZ de la apicultura*. Editorial Hemisferio Sur S.A. 1ª Edición en español 1984, 10ª reimpression 2008. Buenos Aires-Argentina.

**Sancho, M.T., Muniategui, S., Huidobro, J.F. Y Simal, J. (1991a).** *Mieles del País Vasco I: pH y tipos de acidez. Anales de la Bromatología*, XLIII-1, 77-86.

**SERNAP (2004).** *Reserva Nacional de Flora y Fauna de Tariquía*. [Artículo en línea].pp 1-3. Fecha de consulta: mayo de 2008. Disponible en: [www.sernap.gob.bo/imágenes/descargas/áreas/reserva\\_nacional\\_de\\_flora\\_y\\_fauna\\_tariquia.pdf](http://www.sernap.gob.bo/imágenes/descargas/áreas/reserva_nacional_de_flora_y_fauna_tariquia.pdf)

**Serra, J. Y Granados, E. (1993).** *Physicochemical properties, composition and pollen spectrum of ling heather (Calluna vulgaris, (L) Hull) honey produced in Spain*. *Apidologie*, 24, 586-596

**Zamora, M.C., Cherife, J., Roldán, D. (2006).** On the nature of the relationship between water activity and % moisture in honey. *Food Control*, 17, 642-647.

**Zandamela, E. M. F. (2008).** *Caracterización Físico-Química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique*. Tesis doctoral (Doctor en Veterinaria). Universidad de Barcelona, Departamento de ciencia animal y de los alimentos, facultad de veterinaria (españa).

# **ANEXOS**

**ANEXO 1**  
**PROCEDIMIENTOS**



**Procedimiento para la extracción en el equipo de extracción por solvente selecta**

1. Limpiar muy bien todo el material a emplear con algodón empapado con el solvente de extracción (alcohol, éter o hexano) para asegurar que no haya grasa residual en el fondo o las paredes de los cartuchos de extracción de celulosa, los tubos de aluminio para soporte de cartuchos, y los vasos de aluminio del extractor. La fig. A-1 muestra los accesorios para el modelo de 6 plazas, el modelo del LOU es de 2 plazas pero los accesorios son los mismos

Fig. A-1



Equipo que se suministra con el modelo de 6 plazas.

Identificar cada juego de piezas con un número.

Secar y pesar registrando el peso de cada uno de ellos.

Pesar los cartuchos para muestra e identificarlos también.

Cortar y pesar un papel filtro en forma circular con un diámetro que permita cubrir el interior del cartucho para muestra.

Colocar el cartucho para muestra en el soporte cilíndrico de aluminio, introducir el papel filtro en el cartucho y en una balanza analítica pesar, registrar el peso y tarar el conjunto, luego pesar aproximadamente 3 g de muestra seca en cada cartucho.

Medir 2 veces en una probeta 50 ml de solvente y vaciar a cada uno de los vasos de aluminio.

## **2. Colocación de las muestras en la unidad de extracción**

Para no contaminar las muestras y asegurar los resultados, la manipulación debe realizarse con las manos cubiertas con guantes de látex desechables. Tomar cada cartucho con la pinza magnética para manipulación de cartuchos y colocarlo en el cilindro de aluminio correspondiente, poner los vasos con el solvente en la gradilla niveladora y poner los cilindros de aluminio que contienen los cartuchos en el asa de transporte de los mismos, para llevarlos posteriormente hasta su lugar en el equipo.

En la unidad de extracción colocar los niveles de cada columna en la posición “RISING” (nivel de ascenso de los vapores de solvente)

Insertar el asa de transporte con los cartuchos dentro de la unidad de extracción, cuidando que cada cartucho se adhiera a los magnetos que se encuentran en el interior de la columna.

Revisar que la válvula “EVAPORATION” se encuentre en la posición de cierre. En la unidad de extracción colocar los niveles a la posición “BOILING” (nivel inferior o de ebullición). Subir la palanca de ajuste jalando la traba del bastón de la palanca y con la ayuda de la gradilla niveladora introducir los vasos de aluminio, conteniendo el solvente, nivelar los vasos de tal manera que se introduzcan dentro de la pieza blanca de teflón de cada columna, bajar a continuación la palanca de ajuste para asegurar los vasos. La unidad está ahora lista para la extracción.

En este momento el ciclo del solvente comienza: Ebullición-evaporación-condensación, sometiendo las muestras a la acción del solvente tanto en estado líquido como en estado gaseoso, extrayendo la grasa contenida en la muestra y dejándola gotear dentro del vaso de aluminio.

### **Fase de ebullición**

Poner los niveles de cada columna en la posición “BOILING” y las válvulas de los frascos de ebullición en posición vertical. En esta posición las muestras son

sumergidas en el solvente a ebullición para acelerar el proceso de extracción. 30 a 45 minutos, siendo este tiempo proporcional al de recuperación del solvente. Sin embargo el periodo de ebullición puede ser acortado si durante la experiencia se observa que en menor tiempo se obtienen los mismos resultados.

#### **Fase de ascenso del solvente**

Poner los niveles de cada columna de extracción en la posición “RISING”. En esta posición la muestra será expuesta a los vapores del solvente los cuales ascienden y condensan en el enfriador, en posición de reflujo, retornando a los recipientes de aluminio dentro de la columna a mezclarse con la grasa extraída. Esta fase generalmente es más larga que la de ebullición. Dependiendo de la naturaleza de la muestra el proceso puede prolongarse durante un tiempo entre 40 a 60 minutos. El periodo de evaporación puede ser acortado si durante la experiencia se observa que en menor tiempo se obtienen los mismos resultados.

#### **Fase de recuperación del solvente**

Poner las llaves de teflón de las columnas en posición horizontal. En la unidad de extracción, poner los niveles de cada columna en la posición de ebullición. En esta fase, el solvente evaporado se condensa y no retorna a los vasos de aluminio sino que es retenido en la parte superior de la columna por encima del collar. Para esta fase son suficientes de 5 a 15 minutos para recuperar teóricamente los 50 ml de solvente. Al concluir la operación de esta fase, los vasos de aluminio solamente contienen la grasa o el aceite extraído desde la muestra.

#### **Fase de evaporación del solvente**

Rotar la válvula a la posición de evaporación, apretar el interruptor de circulación de aire que se encuentra en la unidad de calentamiento. El objetivo de esta fase es el eliminar los remanentes de solvente de la grasa o aceite que se encuentra en los vasos de aluminio haciendo circular por ellos aire caliente para garantizar la ausencia absoluta de solvente en la grasa o aceite extraído.

Subir la palanca de ajuste jalando la traba del bastón de la misma y sacar cuidadosamente los vasos de aluminio que contienen la grasa. Dejar enfriar y pesar el conjunto y determinar por diferencia la masa de grasa extraída.

*Precaución*

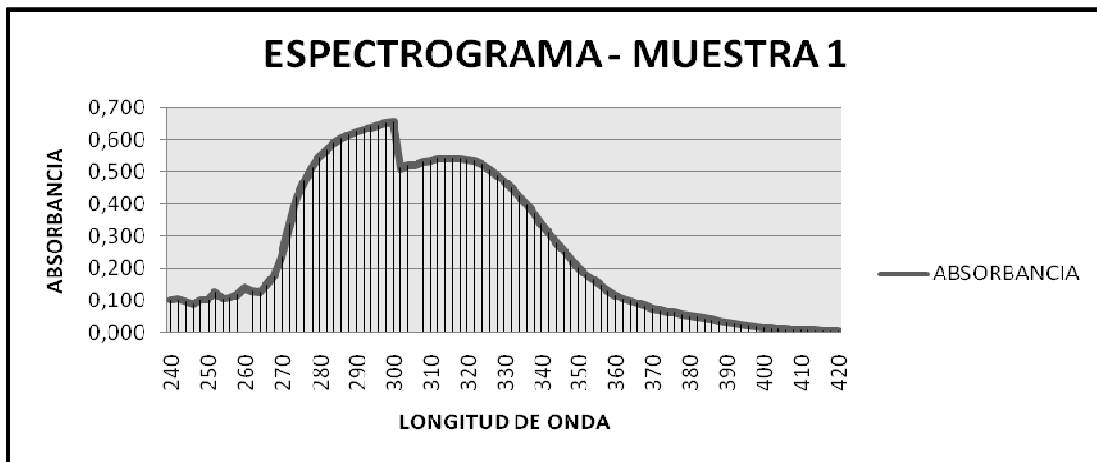
*Toda la manipulación debe realizarse con guantes de latex, usando los instrumentos adecuados para evitar el contacto de los recipientes con las manos.*

ANEXO 2  
RESULTADOS

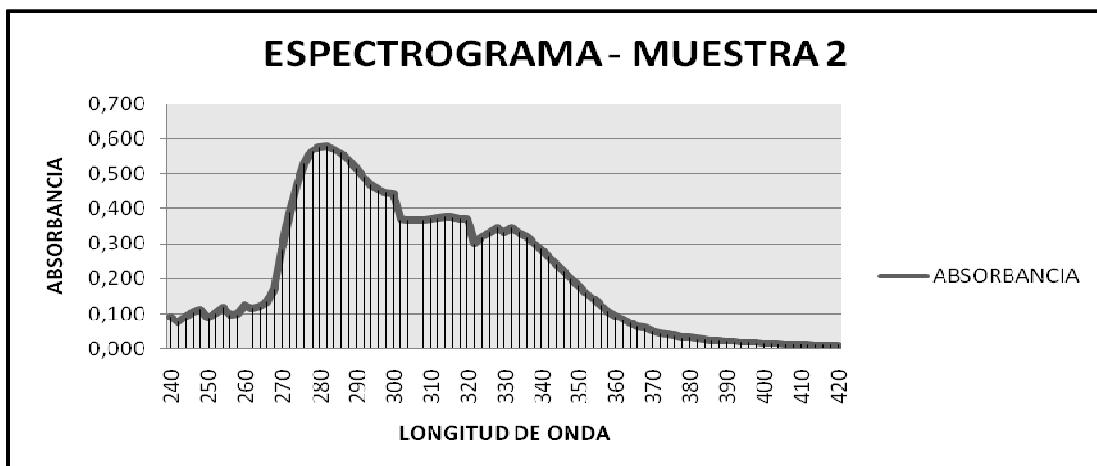
## RESULTADOS

**Tabla A-1** Compilación de datos del ensayo de tintura madre de propóleos realizado a las 27 combinaciones, más dos muestras de referencia, una la reserva de Tariquía y otra de laboratorios Loghman

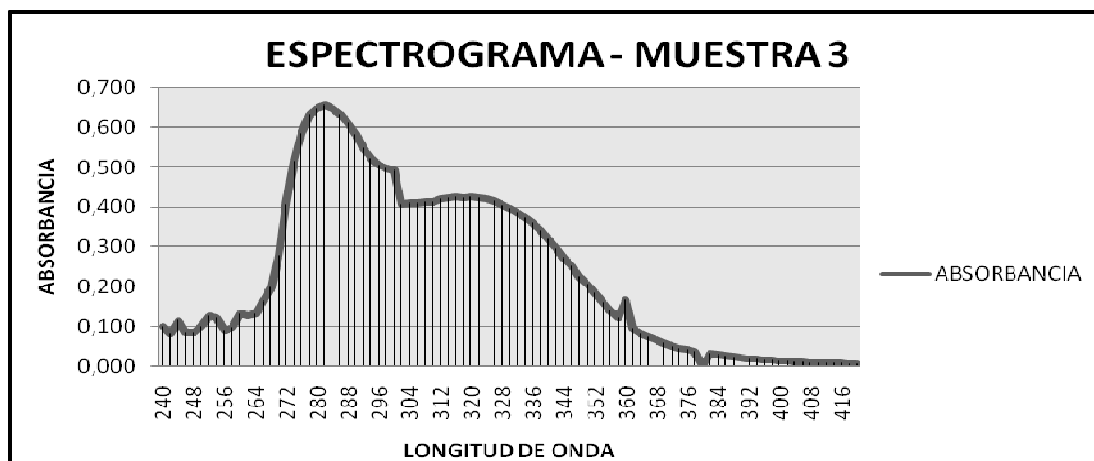
	PESO DEL CRISTALIZADOR	PESO DEL CRISTALIZADOR MAS LOS 20 ml DE MUESTRA	PESO DE LOS 20 ml DE MUESTRA	DENSIDAD	SECADO 1 5 HORAS	SECADO 2 +2HORAS	SECADO 3 +1,5 HORAS	EXTRACTO SECO g/100 ml	RENDIMIENTO
1	35,8024	53,8636	18,0612	0,9031	36,8385	36,8348	36,8345	5,1605	5,7145
2	34,5656	52,5852	18,0196	0,9010	35,4187	35,4165	35,4164	4,2540	4,7215
3	34,5321	52,7026	18,1705	0,9085	35,6889	35,6885	35,6884	5,7815	6,3636
4	34,5575	53,2903	18,7328	0,9366	37,0385	37,0346	37,0340	12,3825	13,2201
5	34,5562	54,1501	19,5939	0,9797	37,0622	37,0614	37,0611	12,5245	12,7841
6	35,0289	53,4703	18,4414	0,9221	37,5751	37,5692	37,5690	12,7005	13,7739
7	35,7968	54,4586	18,6618	0,9331	39,9909	39,9868	39,9866	20,9490	22,4512
8	35,9031	54,9428	19,0397	0,9520	39,0602	39,0555	39,0553	15,7610	16,5559
9	35,8015	54,9350	19,1335	0,9567	40,9089	40,8460	40,8421	25,2030	26,3444
10	34,7879	52,3682	17,5803	0,8790	35,9118	35,9108	35,9106	5,6135	6,3861
11	49,9729	67,8690	17,8961	0,8948	51,1926	51,1911	51,1906	6,0885	6,8043
12	51,1823	68,8788	17,6965	0,8848	52,4995	52,4980	52,4977	6,5770	7,4331
13	36,7146	54,4630	17,7484	0,8874	39,1212	39,1164	39,1162	12,0080	13,5314
14	49,7433	67,8837	18,1404	0,9070	51,9878	51,9728	51,9707	11,1370	12,2787
15	43,9341	61,7368	17,8027	0,8901	47,1183	47,1032	47,1027	15,8430	17,7984
16	38,1772	56,7762	18,5990	0,9300	42,9977	42,9396	42,9368	23,7980	25,5906
17	51,4975	69,9361	18,4386	0,9219	55,8460	55,8178	55,8166	21,5955	23,4242
18	105,2083	123,9859	18,7776	0,9389	111,0658	111,0357	111,0344	29,1305	31,0269
19	108,127	124,9931	16,8661	0,8433	109,1075	109,1020	109,1015	4,8725	5,7779
20	56,9028	73,5270	16,6242	0,8312	58,1809	58,1745	58,1731	6,3515	7,6413
21	57,0709	73,9312	16,8603	0,8430	58,3469	58,3456	58,3454	6,3725	7,5592
22	57,0899	73,9913	16,9014	0,8451	59,5442	59,5250	59,5237	12,1690	14,4000
23	56,7735	73,7276	16,9541	0,8477	59,1088	59,0964	59,0950	11,6075	13,6929
24	48,3585	65,4767	17,1182	0,8559	51,4223	51,4120	51,4107	15,2610	17,8301
25	44,9192	62,7533	17,8341	0,8917	49,6145	49,5578	49,5554	23,1810	25,9963
26	48,605	66,4087	17,8037	0,8902	53,0260	52,9996	52,9964	21,9570	24,6657
27	47,5528	65,8894	18,3366	0,9168	53,3670	53,3050	53,3013	28,7425	31,3499
28	42,0463	54,7826	12,7363	0,6368	43,8581	43,8518	43,8502	9,0195	14,1635
29	36,6740	53,9876	17,3136	0,8657	38,8320	38,8225	38,8192	10,7260	12,3903



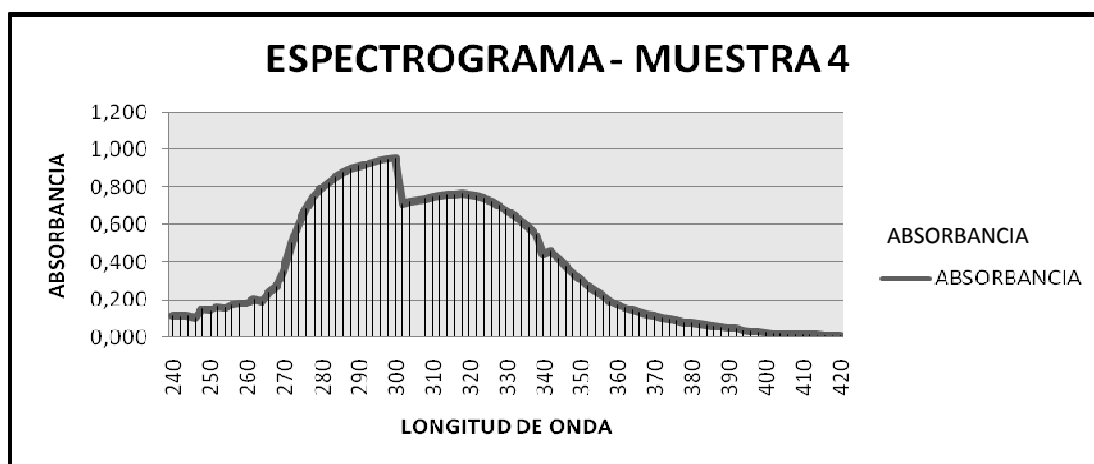
**Figura A-1** Espectrograma de la muestra 1 de los ensayos de extracción.



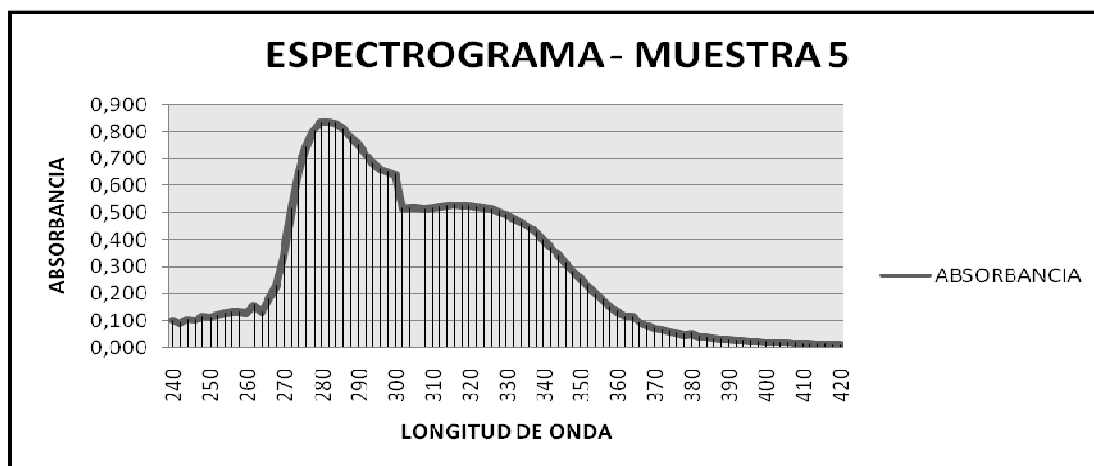
**Figura A-2** Espectrograma de la muestra 2 de los ensayos de extracción.



**Figura A-3** Espectrograma de la muestra 3 de los ensayos de extracción.

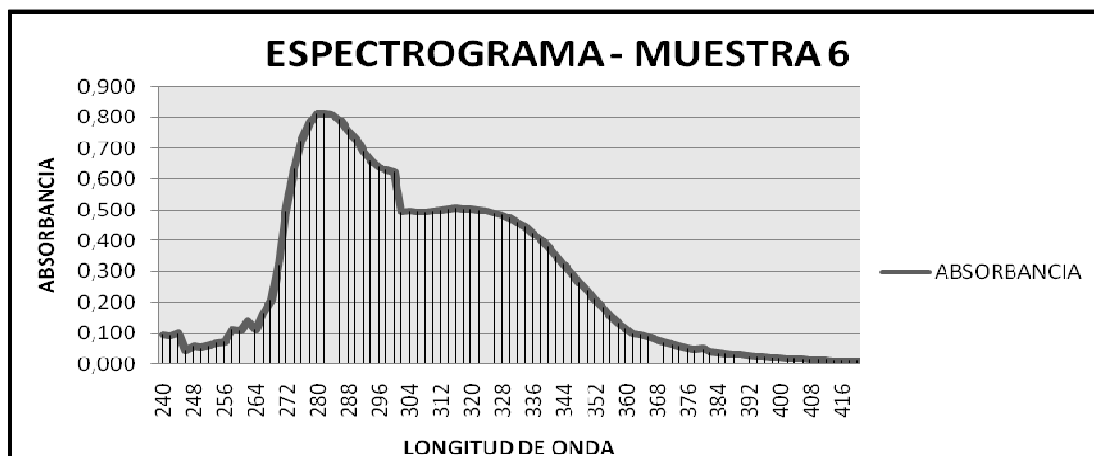


**Figura A-4** Espectrograma de la muestra 4 de los ensayos de extracción.

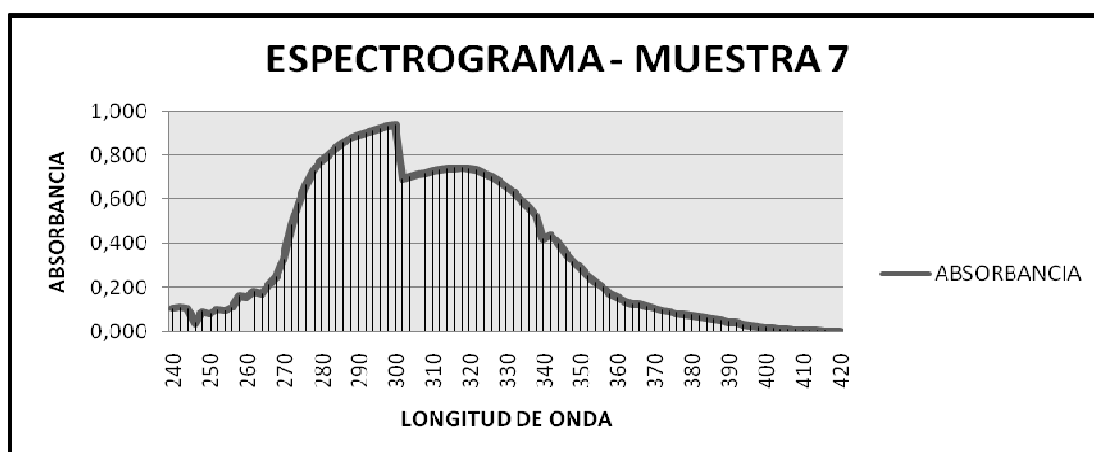


**Figura A-5** Espectrograma de la muestra 5 de los ensayos de extracción.

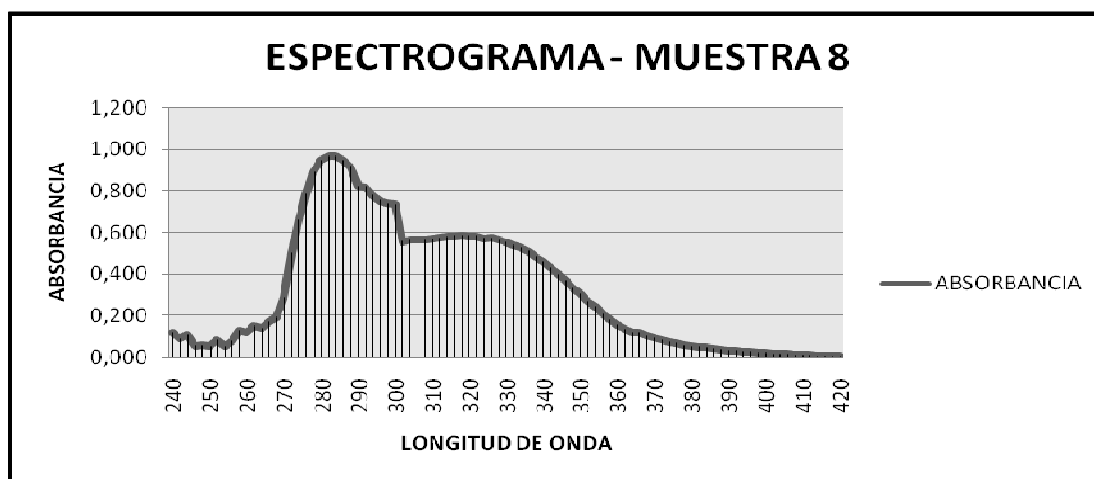




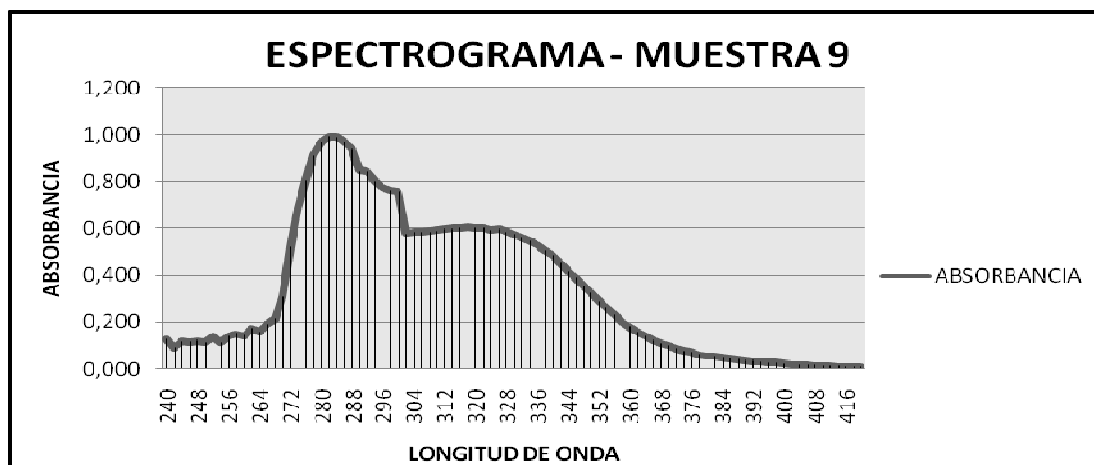
**Figura A-6** Espectrograma de la muestra 6 de los ensayos de extracción.



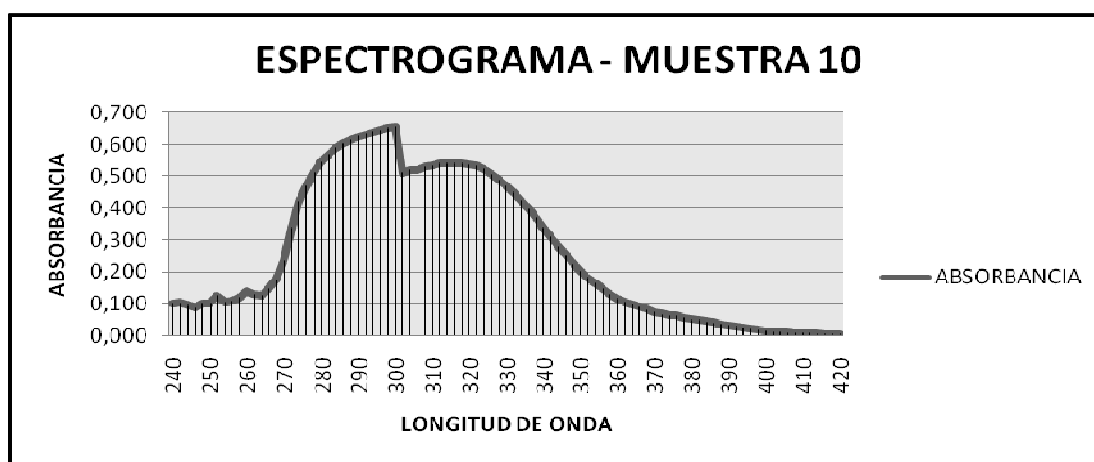
**Figura A-7** Espectrograma de la muestra 7 de los ensayos de extracción.



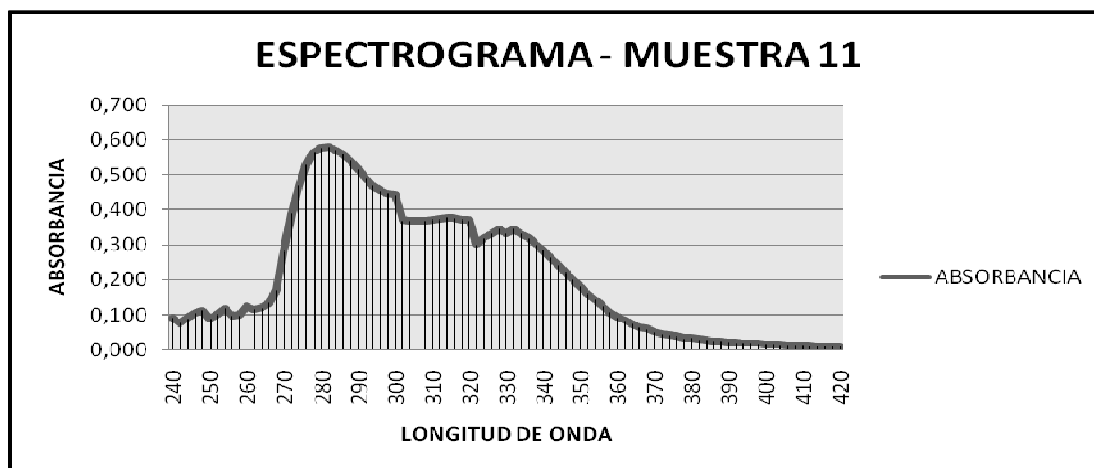
**Figura A-8** Espectrograma de la muestra 8 de los ensayos de extracción.



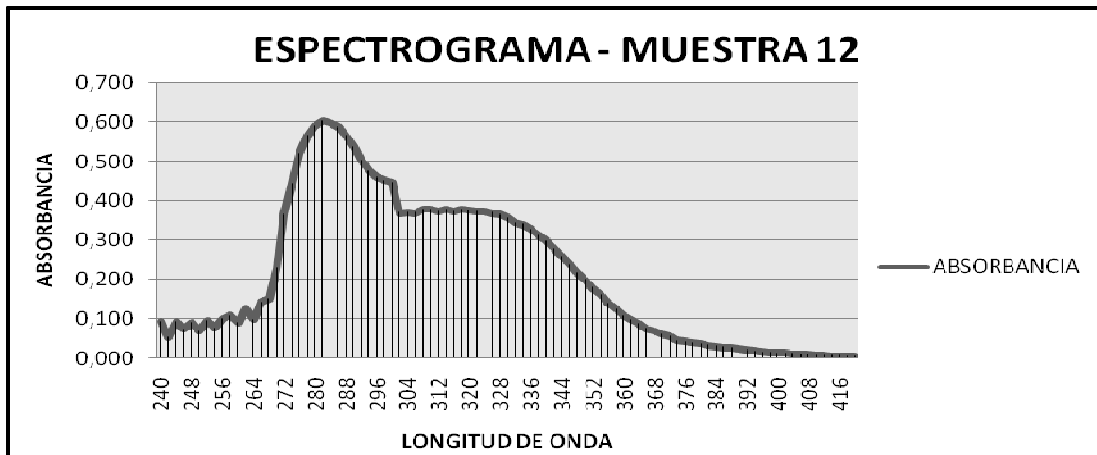
**Figura A-9** Espectrograma de la muestra 9 de los ensayos de extracción.



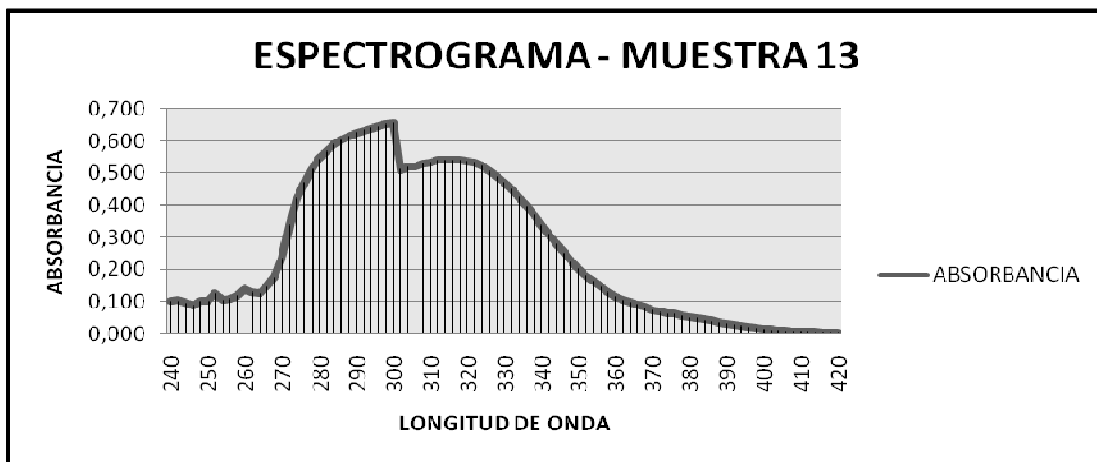
**Figura A-10** Espectrograma de la muestra 10 de los ensayos de extracción.



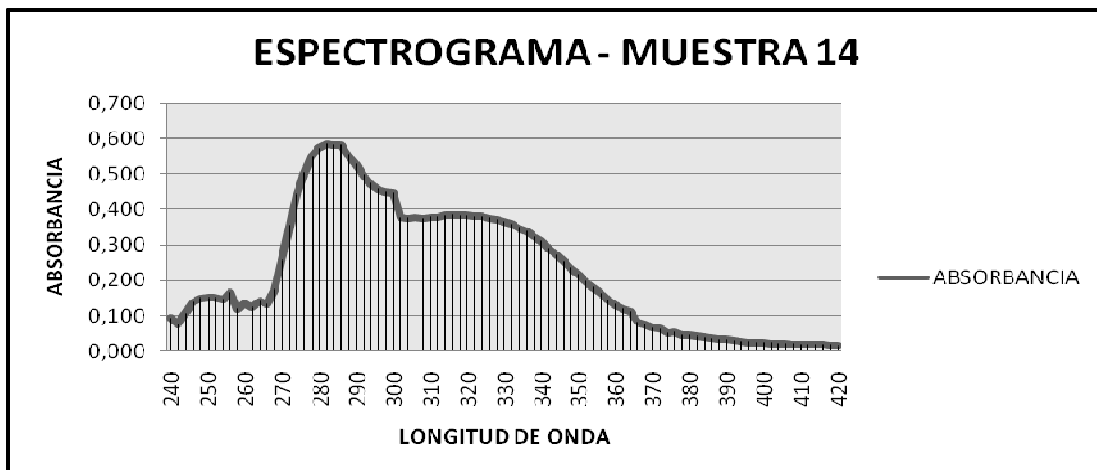
**Figura A-11** Espectrograma de la muestra 11 de los ensayos de extracción.



**Figura A-12** Espectrograma de la muestra 12 de los ensayos de extracción.



**Figura A-13** Espectrograma de la muestra 13 de los ensayos de extracción.



**Figura A-14** Espectrograma de la muestra 14 de los ensayos de extracción.

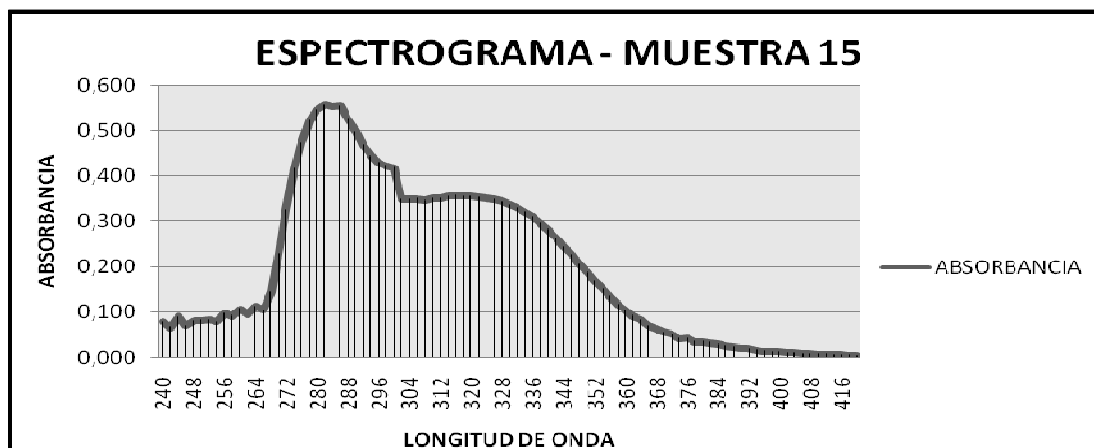


Figura A-15 Espectrograma de la muestra 15 de los ensayos de extracción.

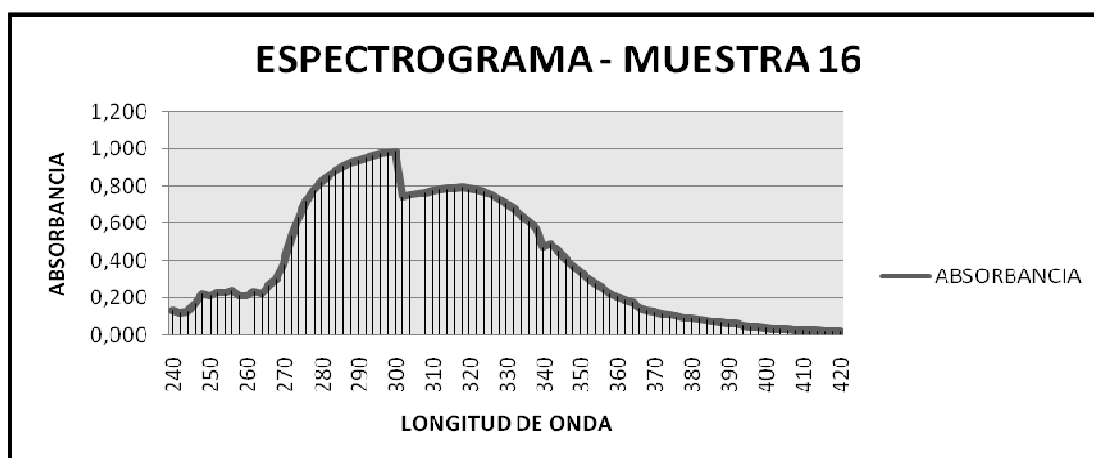


Figura A-16 Espectrograma de la muestra 16 de los ensayos de extracción.

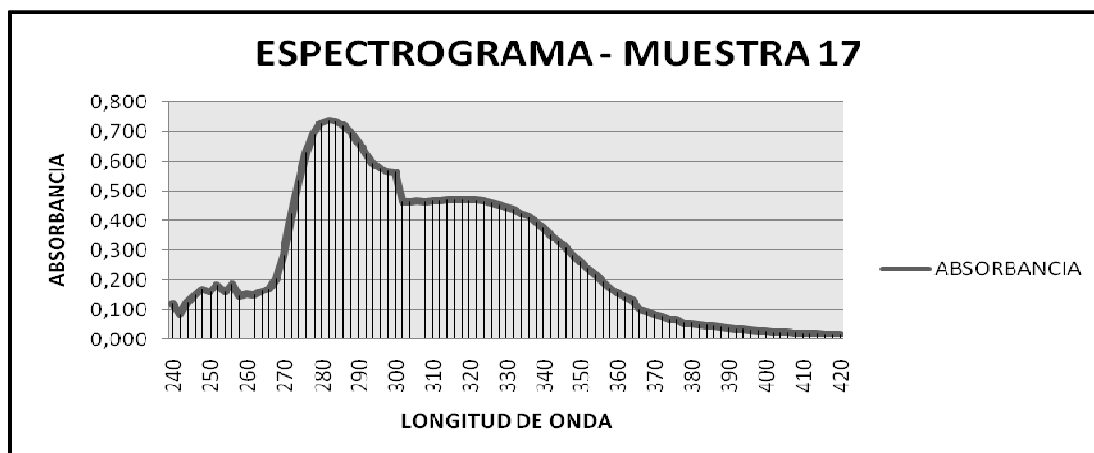
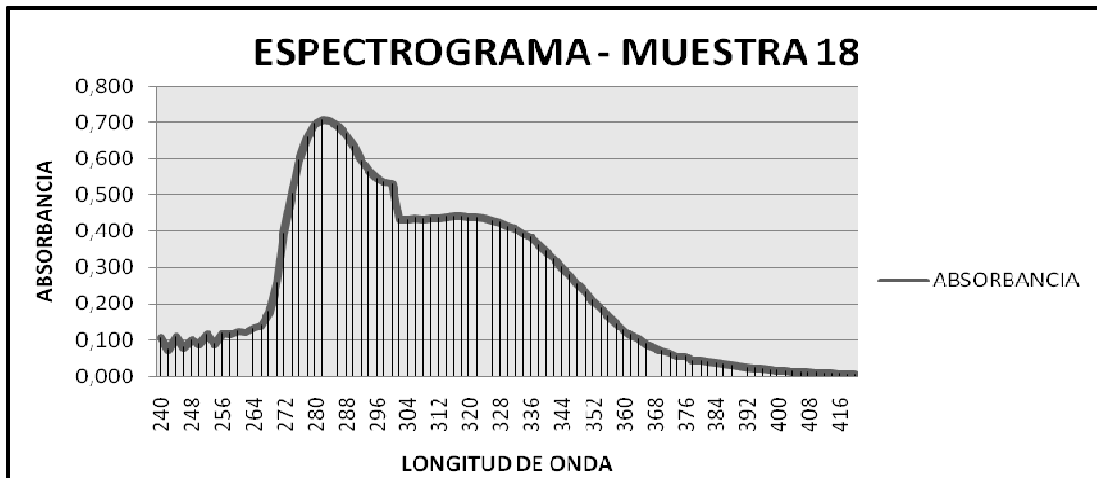
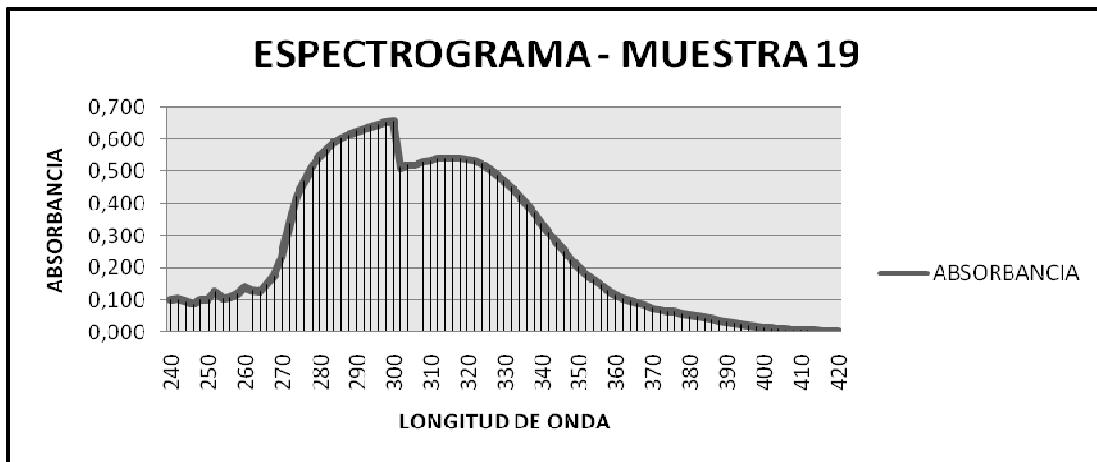


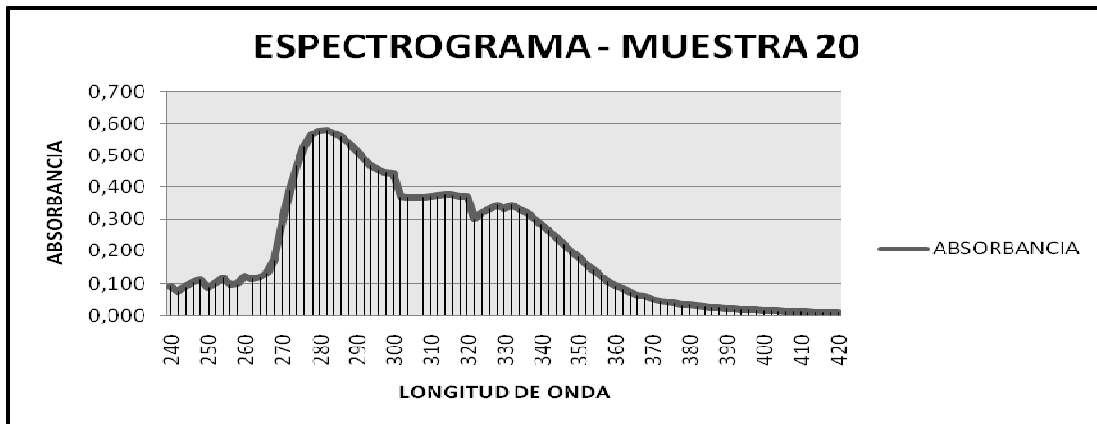
Figura A-17 Espectrograma de la muestra 17 de los ensayos de extracción.



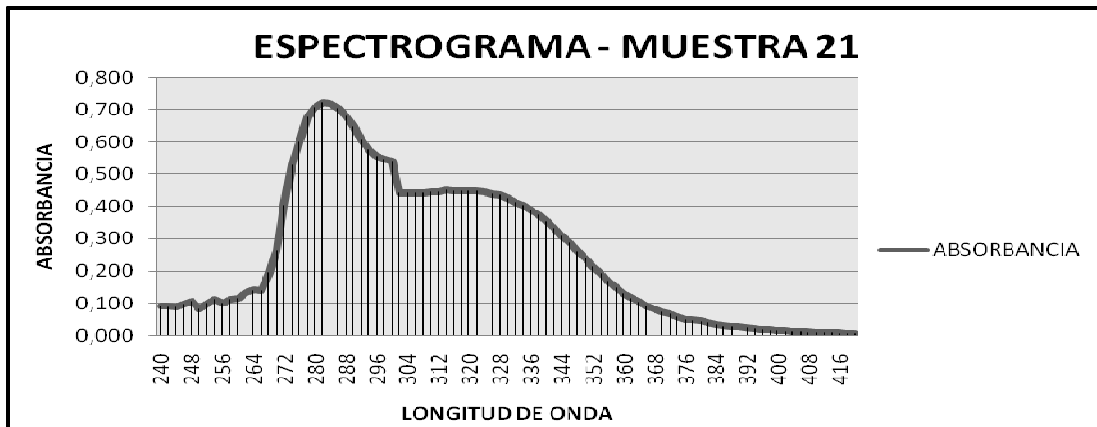
**Figura A-18** Espectrograma de la muestra 18 de los ensayos de extracción.



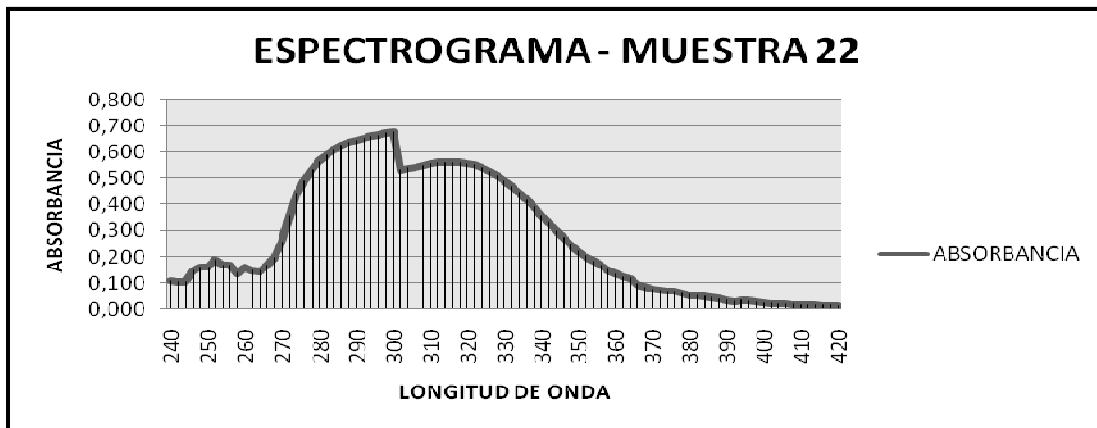
**Figura A-19** Espectrograma de la muestra 19 de los ensayos de extracción.



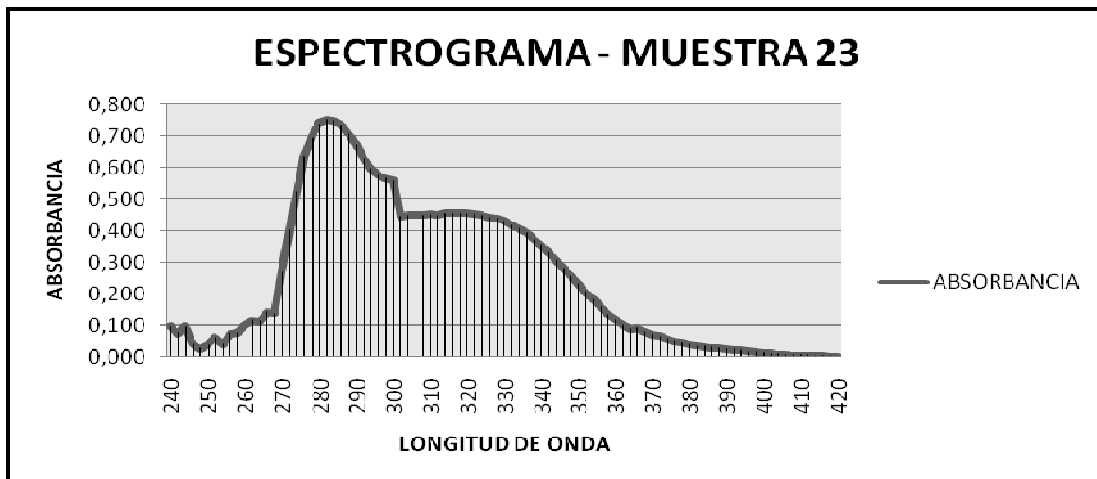
**Figura A-20** Espectrograma de la muestra 20 de los ensayos de extracción.



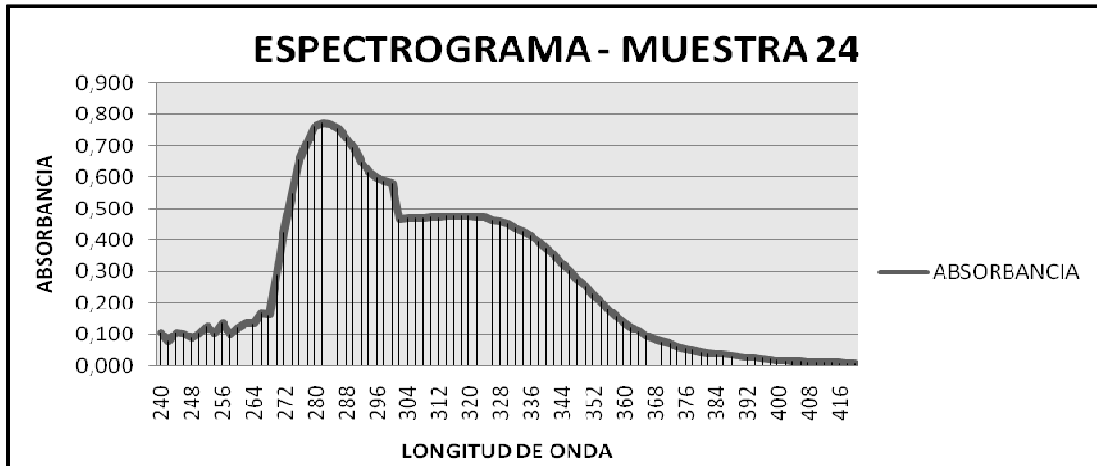
**Figura A-21** Espectrograma de la muestra 21 de los ensayos de extracción.



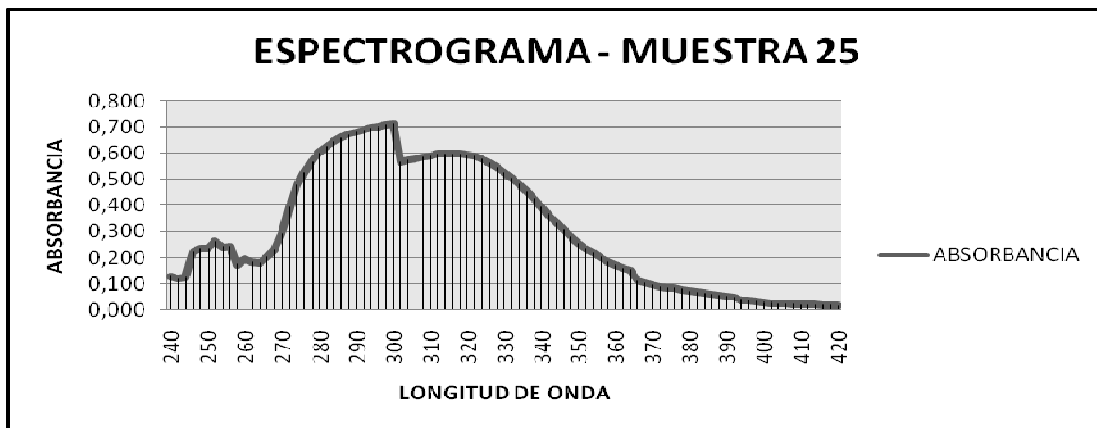
**Figura A-22** Espectrograma de la muestra 22 de los ensayos de extracción.



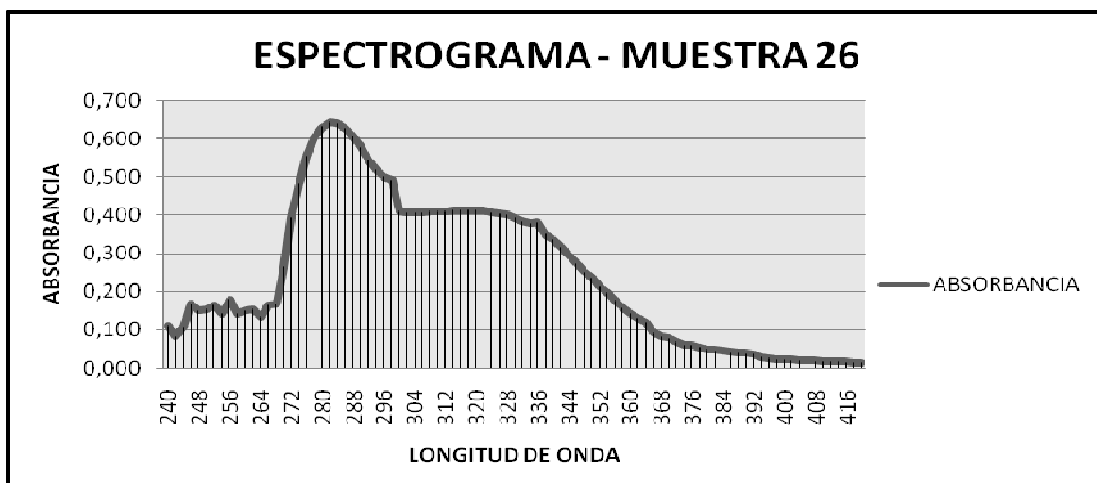
**Figura A-23** Espectrograma de la muestra 23 de los ensayos de extracción.



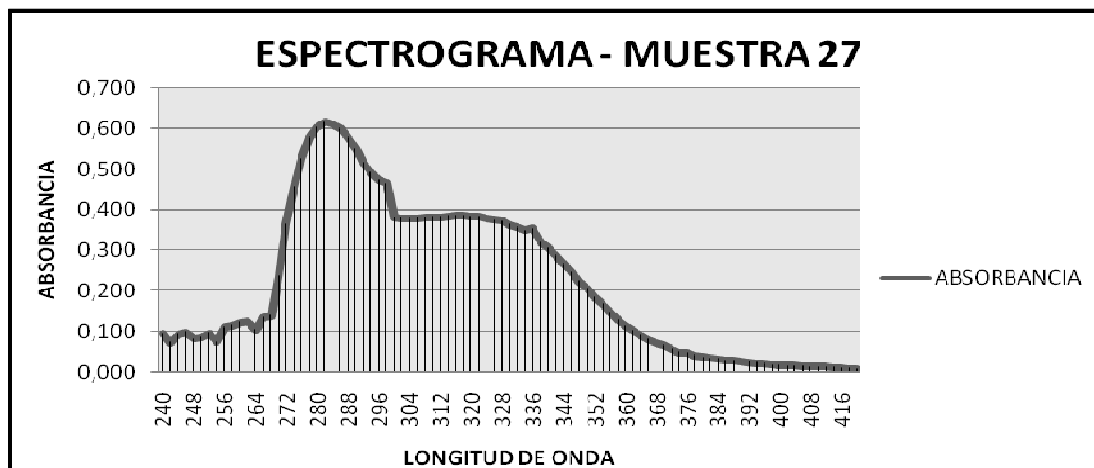
**Figura A-24** Espectrograma de la muestra 24 de los ensayos de extracción.



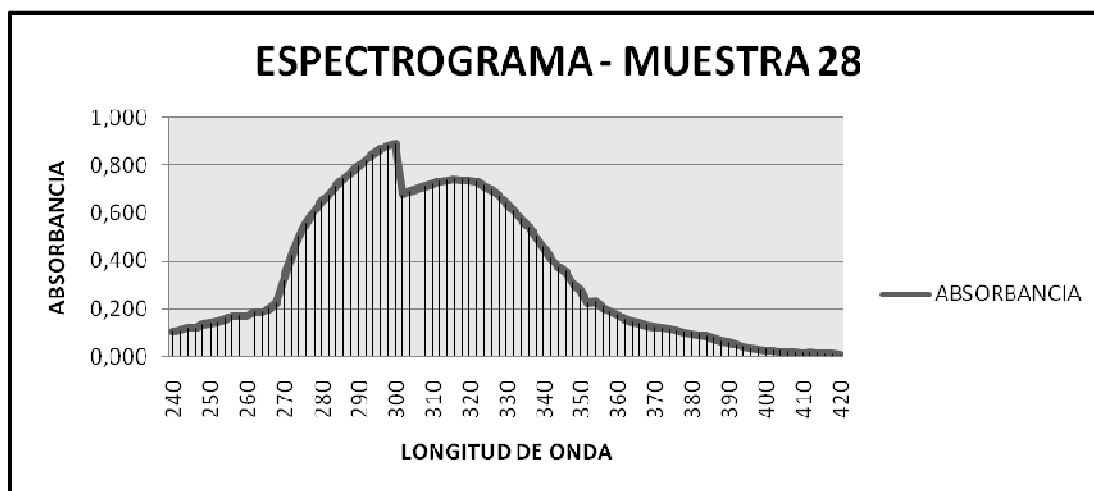
**Figura A-25** Espectrograma de la muestra 25 de los ensayos de extracción.



**Figura A-26** Espectrograma de la muestra 26 de los ensayos de extracción.

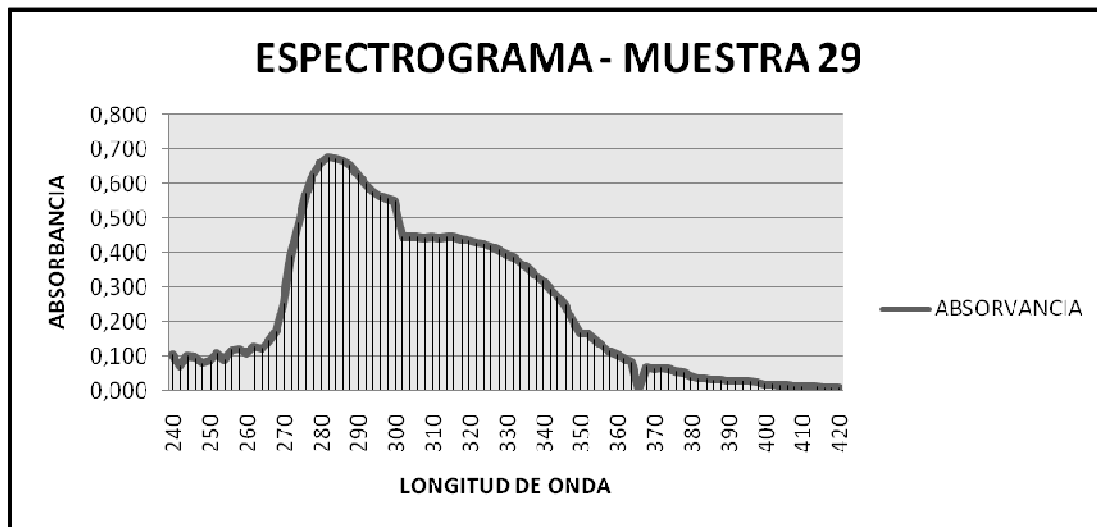


**Figura A-27** Espectrograma de la muestra 27 de los ensayos de extracción.



**Figura A-28** Espectrograma de la muestra 28 de los ensayos de extracción.





**Figura A-29** Espectrograma de la muestra 29 de los ensayos de extracción.