



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CHILE

Informe Producto 2 Estudio FAO – UC

**Acción Global sobre el desarrollo verde de productos agro productos
especiales**

“Un país, un producto prioritario”: la miel chilena

**Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
(FAO)**

**Gloria Montenegro
Pontificia Universidad Católica de Chile**

12 de julio 2022

Autores

Gloria Montenegro, Pontificia Universidad Católica de Chile

Ady Giordano, Pontificia Universidad Católica de Chile

Ximena Ortega, Pontificia Universidad Católica de Chile

Colaboradores

Claudia Giovagnoli-Vicuña, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Gloria Barros, Pontificia Universidad Católica de Chile

Agradecimientos

Gabriel Nuñez, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Patricia Velásquez, Universidad Andrés Bello

Juan Pablo Molina, JPM Exportaciones

Contribuciones

Gustavo Cabrera-Barjas

Miguel Guzman

Enrique Mejías

Raquel Bridi

Felipe Leyton

Valentina Martínez

Yihajara Fuentes

Patricia Martínez

Gastón Bravo

Mauricio Retamal

Tabla de contenido

| | |
|--|----|
| 1. Resumen Ejecutivo | 5 |
| 2. Reconocer los certificados existentes de calidad de la miel y mayormente usados y valorados en el mercado nacional e internacional..... | 7 |
| 2.1. Análisis Requeridos para la Calidad e Inocuidad de la Miel..... | 9 |
| <i>Contenido de Hidroximetilfurfural (HMF)</i> | 11 |
| <i>Enzimas en la miel: Diastasa, Invertasa y glucosa-oxidasa</i> | 12 |
| <i>Conductividad Eléctrica</i> | 15 |
| <i>pH</i> | 16 |
| <i>Acidez Libre</i> | 17 |
| <i>Humedad</i> | 18 |
| <i>Color</i> | 20 |
| <i>Contenido de Azúcares</i> | 22 |
| 2.2. Análisis para establecer una caracterización nutricional y bioactiva de la miel | 23 |
| 2.2.1. Caracterización nutricional de la miel..... | 23 |
| <i>Cenizas /sólidos insolubles</i> | 23 |
| <i>Proteínas</i> | 25 |
| <i>Vitaminas</i> | 26 |
| <i>Minerales</i> | 27 |
| 2.2.2. Caracterización bioactiva de la miel | 28 |
| <i>Actividad Antioxidante</i> | 28 |
| <i>Poder antioxidante reductor del ion hierro (FRAP)</i> | 28 |
| <i>Actividad captadora del radical libre DPPH</i> | 29 |
| <i>Actividad Antimicrobiana</i> | 32 |
| <i>Polifenoles</i> | 32 |
| 2.3. Análisis para establecer la inocuidad de la miel | 35 |
| <i>Residuos Pesticidas</i> | 35 |
| <i>Antibióticos</i> | 41 |
| <i>Metales pesados</i> | 42 |
| <i>Adulteración</i> | 43 |
| 2.4. Identificar la oferta de laboratorios acreditados para las certificaciones de mieles chilenas, considerando las exigencias de los países de destino y precio de los testeos. | 44 |
| <i>Normativa chilena</i> | 44 |

| | |
|---|-----------|
| <i>Requerimientos para apicultores de miel de exportación.....</i> | 46 |
| <i>Requerimientos para los establecimientos exportadores de miel.....</i> | 47 |
| <i>Análisis y requerimientos exigidos por los servicios oficiales de cada país destino a exportar.....</i> | 49 |
| <i>Capacidad Analítica de los laboratorios en Chile para la exportación de miel.....</i> | 52 |
| 2.5. Análisis FODA y hoja de ruta para aumentar la oferta y acceso a los laboratorios con capacidad analítica para la exportación de la miel chilena | 64 |
| <i>Análisis FODA del proceso tanto en el mercado interno como externo</i> | 64 |
| <i>Hoja de ruta para aumentar la oferta y acceso a los laboratorios con capacidad analítica para la exportación de la miel chilena</i> | 72 |
| 3. Comentarios Finales y Recomendaciones..... | 80 |
| 4. Referencias | 81 |

1. Resumen Ejecutivo

La calidad de la miel es un tema relevante en el gremio apícola nacional, debido al crecimiento su consumo y su alto nivel de exportación; sin embargo presenta el gran desafío de poder tener acceso tanto a la información relevantes sobre la importancia de la calidad, , así como acceso a laboratorios que realizan los análisis químicos necesarios para cumplir dicha calidad.

El objetivo de este estudio busca identificar los diferentes parámetros que describen la calidad de la miel, así como su inocuidad y sus propiedades bioactivas, que le dan valor agregado, según se describen tanto en literatura científica como en las diferentes directrices y legislaciones vigentes de diversos países. Además, describir los análisis químico que deben emplearse para la descripción de los parámetros de calidad, según lo establecen organismos como la Internacional Honey Comission (ICH) o la Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). A su vez, identificar aquellos laboratorios en el territorio chileno que realizan dichos análisis, tanto en el contexto de investigación como de servicios a terceros, y con especial atención a aquellos laboratorios que se encuentra acreditados para dicho fin; según las herramientas de búsqueda disponibles y de libre acceso. Se realiza además una descripción de las fortalezas y debilidades del acceso a laboratorios de servicio para análisis de miel, aportando con diferentes medidas para avanzar en el camino de la comercialización de miel chilena. Y finalmente, propone una hoja de ruta para aumentar la oferta y acceso a laboratorios certificadores de inocuidad y calidad de las mieles chilenas, identificando las debilidades del proceso en la ruta de certificación para el mercado interno y externo.

Introducción

La composición química de la miel es muy diversa, depende principalmente de la flora de origen utilizada por la abeja, del grado de maduración de la miel, de las influencias climáticas y geográficas, y de las condiciones de procesamiento/almacenamiento. A pesar de esta variabilidad, la miel generalmente está compuesta de diferentes azúcares, sobre todo de fructosa y glucosa, así

como de otras sustancias, como ácidos orgánicos, enzimas y partículas sólidas derivadas de su recolección.

La miel de abeja destinada al consumo humano debe ser de una calidad óptima, de acuerdo con los requisitos de cada país. Chile incluye parámetros de calidad como el contenido de agua, contenido de hidroximetilfurfural (HMF), actividad diastasa, conductividad eléctrica y acidez libre. Para evaluar la calidad de la miel, se utilizan métodos espectrofotométricos, refractométricos, y de titulación, principalmente, basados en sus características fisicoquímicas.

La miel madura de buena calidad normalmente contiene hasta un 20% de agua. Cuando se excede este nivel, es factible el desarrollo de microorganismos, lo que aumenta el riesgo de fermentación del producto. La fermentación afecta directamente el aroma y el sabor, ya que se acentúan características ácidas, si bien es sabido que la miel es un medio que contiene diferentes tipos de ácidos débiles de manera natural que le ayudan a preservarse del deterioro microbiano.

La miel suele presentar valores limitados de pH (3.2- 4.5) y acidez libre, generados como resultado de los ácidos producidos por las reacciones enzimáticas que ocurren durante la maduración y almacenamiento de ésta. Parámetros como color y pH, si bien no están contemplados en la normativa nacional ni internacional, son importantes características sensoriales que influyen en el precio final y en la aceptación y preferencia de los consumidores.

Una de las enzimas más importante es la diastasa o amilasa, que transforma el almidón a glucosa y es transferida por la abeja al néctar durante al almacenamiento a través de sus glándulas hipofaríngeas. Dado que la diastasa es sensible al calor, un bajo contenido de esta puede indicar sobrecalentamiento del producto. El contenido de diastasa y de hidroximetilfurfural (HMF) son los parámetros básicos de control de calidad en la miel, como indicadores de frescura.

El HMF es un compuesto producido por la degradación de azúcar en medio ácido al aplicar calor; en mieles frescas, está ausente o se encuentra en pequeñas cantidades. Dada la presencia de este tipo de compuestos inorgánicos y otros compuestos como ácidos y minerales, la miel tiene la capacidad de conducir la corriente eléctrica cuando se aplica un campo eléctrico, que es posible de medir mediante la determinación de la conductividad eléctrica; a mayor conductividad, mayor contenido de esos compuestos. El contenido de minerales también ha sido relacionado con el otro

parámetro de calidad de las mieles: el color. El color de la miel puede tener desde un tono casi incoloro a un tono pardo oscuro, y esta influenciado también por los pigmentos producidos por las flores y el contenido de azúcares, esto forma parte esencial de los atributos diferenciadores de las mieles.

Cualquier alteración en estos parámetros de calidad puede ser indicativo de mal manejo o contaminación durante la cosecha, envasado, almacenamiento o comercialización, lo que va en desmedro de su valor comercial.

Los productos originados en las colmenas de *Apis mellifera* (la abeja de miel) adquieren las propiedades de las plantas que los producen, vale decir de su origen floral y geográfico, siendo posible obtener productos apícolas con características únicas e irrepetibles, especialmente cuando las colmenas se disponen en áreas de vegetación nativa, elementos que hasta ahora no ha sido aprovechado en su plenitud como instrumento de diferenciación y de desarrollo de nuevas aplicaciones. Existe un escaso nivel de diferenciación y de valor agregado a nivel de exportaciones; los volúmenes son aún bajos y hace poco que se exporta a algunos de los más exigentes mercados del mundo. La miel en sí un gran potencial como alimento saludable y se suma a ello ser una fuente de principios bioactivos, certificables por laboratorios de calidad. Para ello se necesita aunar criterios, articular iniciativas de diferenciación, tanto públicas como privadas, y también se requiere visibilizar y poner en valor el trabajo científico y tecnológico logrado en el país para las Mieleles Chilenas.

2. Reconocer los certificados existentes de calidad de la miel y mayormente usados y valorados en el mercado nacional e internacional.

Asegurar la calidad de un alimento o producto alimentario durante su procesamiento y en su formato final es clave para garantizar su consumo seguro y para cumplir con las expectativas de los consumidores en cuanto a sus características de calidad y organolépticas. Dentro de los factores determinantes de la calidad y del valor comercial de un alimento o producto alimentario se encuentran la estructura y composición. En la miel de abeja las principales características están dirigidas a sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales, ya que dichas propiedades pueden variar

de acuerdo con la flora dominante que circunda la colmena. Determinar la trazabilidad química y el origen geográfico en la miel resultan en parámetros de calidad que permiten otorgar seguridad y confianza a los consumidores mediante la certificación con denominación de origen del producto regional. Por otro lado, las propiedades sensoriales, sabor y aroma, proporcionan información útil sobre la calidad debido a su relación con los compuestos volátiles presentes en la miel, relacionados al origen geográfico y a las variaciones estacionales.

Organismos nacionales e internacionales regulan de manera analítica y cuantitativa ciertos parámetros que permiten obtener productos alimentarios de calidad y, por consiguiente, con un valor de comercialización mayor. Para el caso de la miel de abeja, su calidad debe ser alta y cumplir con los estándares establecidos, ya que es un producto destinado al consumo humano. Los requisitos en países de forma individual incluyen generalmente parámetros tales como la determinación de la variedad, contenido de agua (no más del 20%), hidroximetilfurfural (general, no más de 40 mg/kg), prolina (no menos de 25 mg/100 g), actividad de diastasa (no menos de 8 en la escala de Schade), conductividad eléctrica (por ejemplo, en miel de mielada, no menos de 0,8 mS/cm), pH, impurezas insolubles (no más de 0,1 g/100 g) y acidez libre (en general, no más de 50 miliequivalentes de ácido/1000 g). En Chile, además se encuentra la Norma Chilena Oficial NCh2981.Of2005 que establece la denominación de origen botánico de la miel mediante pruebas melisopalinológicas permitiendo diferenciar el origen de las mieles producidas. Otros parámetros incluyen, por ejemplo, el color y el contenido fenólico total. Internacionalmente, Codex Alimentarius señala la composición esencial y los factores de calidad de la miel de abeja, y la Directiva del Consejo de la Unión Europea, señala criterios de denominación, descripción, definición de productos, las características de la composición de la miel y los límites máximos de residuos para asegurar la inocuidad y calidad del producto.

La miel es un producto naturalmente inocuo, por tanto, su consumo no resulta un peligro para el ser humano, sin embargo, una incorrecta manipulación puede conllevar a perder dicha propiedad desde las diferentes aristas asociadas a la producción de la miel (manejo de la colmena, entorno de la colmena, envasado y almacenamiento). La pérdida de inocuidad también es relacionada al momento de resguardar los apiarios de parásitos de abejas y enfermedades bacterianas de fácil propagación, ya que habitualmente se utilizan tratamientos veterinarios preventivos o terapéuticos, los cuales suelen originar residuos en la miel. La importancia de la

inocuidad a nivel nacional e internacional resulta en poder garantizar que la miel se encuentre exenta de todo tipo de contaminante, ya sea físico, químico y/o biológico.

Por lo tanto, es de consideración evaluar cada una de las características que envuelven este producto apícola en todos los ámbitos mencionados. La forma de evaluar la miel es través de diferentes análisis fisicoquímicos los cuales son determinados por laboratorios especializados, y sus resultados son entregados mediante informes y/o certificados, siendo éstos las principales herramientas para reportar la calidad e inocuidad de la miel en el momento de introducirla en el mercado nacional e internacional. Es por ello que en este documento se hace mención a los análisis a considerar de acuerdo a la propiedad evaluada en la miel, se presenta una revisión de los laboratorios acreditados que pudiesen reportar dicha información, se señalan las exigencias de los países destino, una hoja de ruta para aumentar la oferta y el acceso a los laboratorios de análisis, y finalmente una análisis FODA de toda la información recapitulada.

2.1. Análisis Requeridos para la Calidad e Inocuidad de la Miel

Hoy en día es sabido que la miel posee una composición compleja, ya que sus características varían según su origen botánico y geográfico, así como por su proceso de producción y almacenamiento. Sin embargo, de manera general, se compone de carbohidratos, y agua, además de otros compuestos de menor contribución como ácidos orgánicos, minerales, vitaminas entre otros. Esta complejidad le da a su vez propiedades sensoriales únicas a este alimento, pero sobre todo influye en las propiedades bioactivas que presenta.

La miel se encuentra compuesta por cerca de un 80% por azúcares (carbohidratos), especialmente glucosa y fructosa, que actúan como combustible energético del organismo. Ambos monosacáridos son isómeros, en otras palabras, tienen la misma fórmula química, pero su estructura molecular es diferente. Por ello, sus rutas metabólicas difieren y, por ende, también sus efectos sobre el organismo. Para el caso de la glucosa, es absorbida rápidamente en el torrente sanguíneo, en consecuencia, se produce un pico elevado y repentino del azúcar en sangre. En cambio, la fructosa se absorbe de forma pasiva, es decir, más lentamente que la glucosa.

La miel madura normalmente contiene hasta un 20% de agua. Cuando se excede este nivel, es factible el desarrollo de microorganismos, por consiguiente, existe el riesgo de fermentación del producto. También es posible encontrar concentraciones variables de proteínas y aminoácidos tales como la prolina y la lisina, que son el reflejo del contenido de nitrógeno de la miel. Además de cantidades reducidas de vitaminas de los grupos B y vitamina C, que, sin cubrir nuestras necesidades diarias, tienen la ventaja de ser altamente asimilables.

Cabe destacar la presencia de pequeñas cantidades de enzimas, que, si bien no constituyen como componente mayoritario, éstas son de vital importancia, debido a que son las causantes de convertir los azúcares complejos en simples; lo que se traduce en una miel de fácil digestión para el ser humano. La enzima más importante de la miel es la α -glucosidasa, también conocida como invertasa, responsable de hidrolizar la sacarosa en glucosa y fructosa. Asimismo, se ha reportado en las mieles la presencia de cantidades trazas de residuos inorgánicos, también conocidos como cenizas. Siendo el potasio y el sodio los elementos minerales más comunes.

En el mismo orden de ideas existe la presencia de muchas otras sustancias que conforman la composición de una miel, incluidos flavonoides, polifenoles, pigmentos y granos de polen.

Tabla 1. Parámetros de calidad de la Miel

| Análisis | Valores esperados |
|--|-------------------|
| Contenido de Hidroximetilfurfural (ppm) | < 40 |
| Índice de diastasa (escala de Schade) | > 8 |
| Conductividad eléctrica (μ s/cm) | < 800 |
| pH (Adimensional) | * |
| Acidez libre (miliequivalentes de ácido /kg) | < 50 |
| Humedad (%) | < 20% |
| Color (mm Pfund) | * |
| Contenido de Azúcares (% glucosa) | * |

* Valores variables de acuerdo con las características de la miel analizada

La Tabla 1 muestra los principales parámetros fisicoquímicos establecidos en el Codex Alimentarius para evaluar la calidad de las mieles, sin considerar las posibles excepciones que se han reportado. A continuación, se hace una descripción de cada uno de los parámetros:

Contenido de Hidroximetilfurfural (HMF)

Hace una década en Chile y en la Unión Europea (UE), para obtener una miel de calidad han requerido la determinación previa de algunos parámetros de calidad, entre los que se encuentra el contenido de hidroximetilfurfural (HMF). El HMF se trata de un aldehído y un furano, compuestos formados por la degradación de los productos azucarados, en particular por deshidratación de la fructosa. Ni el néctar ni las mieles frescas contienen HMF, el cual aparece de forma espontánea y natural en la miel debido al pH ácido, al agua y a la composición rica en monosacáridos (fructosa y glucosa), aumentando su concentración con el tiempo y otros factores. El contenido de HMF en la miel es un indicador de las condiciones en que la misma fue almacenada, el tratamiento recibido y la edad de la miel. Los niveles de HMF aumentan significativamente cuando la miel es sometida a tratamientos térmicos inadecuados.

La UE ha establecido un límite de 40 mg de HMF por kg de miel, con la excepción de mieles que provengan de un país de clima tropical, en donde se aceptarían valores menores a 80 mg/kg, y en el caso de mieles con bajo contenido de enzimas, se aceptarían solo hasta 15 mg/kg. En las mieles de mielada los valores esperados son más altos de HMF que las mieles de néctar, mientras que mieles viejas contendrán a su vez mayores concentraciones de HMF que mieles frescas. El Codex Alimentarius establece el mismo valor para contenido de HMF. Algunos países como República Checa o Eslovaquia requieren un valor de HMF menor a 20 mg/kg, mientras que Alemania establece valores de 15 mg/kg como permitidos. Es así también que valores de 60 mg/kg, en lugar de 80mg/kg son establecidos como límites por Colombia, a pesar del clima tropical en el que se producen sus mieles.

El contenido de HMF puede ser cuantificado mediante el método 980.23 de la AOAC (sigla en inglés correspondiente a Association of Official Agricultural Chemists) para miel de abejas; también validado por la IHC (sigla en inglés correspondiente a International Honey Commission). Este método consiste en la determinación de absorbancia de una disolución filtrada de miel, después de la adición de disolución carrez I y carrez II, a 284 y 336 nm, utilizando como referencia la disolución obtenida.

$$HMF \left(\frac{mg}{100g} \right) = \frac{(A_{283nm} - A_{336nm}) * F * 5}{g_{miel}}$$

Donde el valor de F corresponde a 14,97 y se deriva del cálculo: $(126/16830) \times (1000/10) \times (100/5)$, siendo 126 *g/mol* la masa molar de HMF, 16830 $\text{cm}^{-1}\text{mol}^{-1}\text{L}$ el coeficiente de extinción molar de HMF a 284 nm, 1000 la relación entre *mg/g*, 10 la relación entre centilitros/L, 100 gramos (g) de miel informados y 5 los gramos de miel utilizados para el ensayo.

El método utilizado para la determinación de HMF en mieles es el descrito a continuación:

- Cinco gramos de miel son pesados en un vaso de precipitado. Luego, se le adicionan 25 mL de agua destilada y se homogeneiza.
- La disolución preparada debe ser transferida a un matraz de 50 mL y se le añade 0.5 mL de la solución Carrez I y 0.5 mL de la solución Carrez II.
- El matraz aforado con agua destilada se mezcla y filtra utilizando papel filtro y un embudo. Despreciando los primeros 10 mL de filtrado.
- Cinco mL del filtrado fue transferido a tubos de ensayo.
- La referencia fue preparada mezclando suavemente con 5 mL de agua destilada y 5 mL de sulfito ácido de sodio en un tubo de ensayo.
- La absorbancia de la muestra y de la referencia fueron medidas a 284 nm y a 336 nm de longitud de onda.

El HMF también puede ser determinado por Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC, sus siglas en inglés) con detector UV a 285 nm, comparando su señal con la de un estándar y realizando una curva de calibración para determinar la concentración en las mieles. Este método es más costoso y requiere de más tiempo para su realización, pero eliminar algunas interferencias en la determinación por el método espectrofotométrico.

Enzimas en la miel: Diastasa, Invertasa y glucosa-oxidasa

La miel presenta pequeñas cantidades de enzimas, principalmente diastasa, invertasa y glucosa-oxidasa, siendo éstos tres las más relevantes, sin embargo, también se han determinado las enzimas catalasa y β -glucosidasa. Algunas enzimas, producidas en las glándulas de las abejas, son utilizadas durante el proceso de producción de la miel, mientras que otras, como catalasa, provienen directamente del néctar.

Dado que las enzimas son muy sensibles a los cambios de temperatura, se han utilizado como parámetros de envejecimiento, calentamiento y en general condiciones de almacenamiento de las mieles. Por lo cual, la actividad enzimática es utilizada para medir la frescura de la miel, ya que ésta tiende a disminuir conforme la miel va envejeciendo. En general, la medición de la actividad de diastasa e invertasa son las que se realizan con más frecuencia; estableciendo la UE un valor mínimo de 8 en la escala de Schade como el valor requerido para la actividad de diastasa, en donde las mieles de origen *citrus*, por naturaleza tiene bajos contenidos de enzimas permitiendo aceptar un valor de 3 en la escala de Schade, siempre y cuando se corresponda un valor de HMF no mayor a 15 mg/kg, otro indicador de la frescura de la miel. Cabe destacar que tanto las mieles de mielada como de néctar, presentan valores inferiores a 35 en la escala de Schade, sin tener diferencias significativas entre ellas.

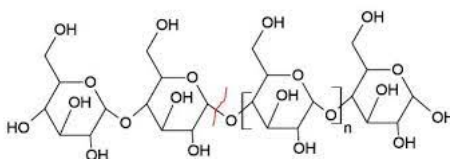


Figura 1. Enzima diastasa (α -amilasa).

La diastasa es una enzima que hidroliza almidón y dextrinas, generando carbohidratos más pequeños; cuya introducción a la miel corresponde en primer lugar a su producción en las glándulas hipofaríngeas de las abejas, además de poder estar presentes en el néctar y mielada. Por esta razón, la actividad de diastasa es dependiente del origen botánico de la miel, habiendo mieles monoflorales con valores excepcionales de la actividad de diastasa.

Existen varios métodos para la determinación de la actividad de diastasa. El más antiguo, el Método de Schade, se basa en la determinación del color azul del indicador de yodo, cuando una disolución estándar de almidón es hidrolizada por la diastasa presente en la miel. Este método es el oficial de acuerdo con las Normas de la Comisión Internacional de la Miel y el Codex Alimentarius, así como también incluido por los Métodos AOAC No. 958.09. De acuerdo ambas determinaciones, la actividad de diastasa no debe ser menor o igual a 8, expresada como número de diastasa (DN); donde DN en la escala de Schade, se define como g de almidón hidrolizado en 1h a 40 °C por 100 g de miel.

Recientemente, el método Phadebas está siendo utilizado, en donde un almidón especialmente sintetizado en conjunto con un pigmento azul, es seguido por espectrofotometría, siendo ésta forma de determinación incluida por la IHC.

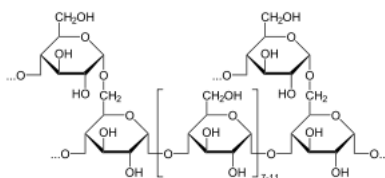


Figura 2. Enzima invertasa (α -glucosidasa).

La invertasa es una de las enzimas más relevantes de la miel, ya que hidroliza la sucrosa (presente en el néctar) en fructosa y glucosa (principales azúcares presentes en la miel). Se ha considerado un mejor indicador de la calidad de la miel, ya que es más sensible al calor que la diastasa. Para éste propósito se espera que mieles frescas presenten valores mayores a 10 IN (sigla en inglés correspondiente a invertase number); mientras que valores mayores a 4 IN, son aceptados para mieles con baja actividad enzimática. El método para la determinación del IN corresponde al desarrollo de Zurcher y Hadorn (1972), en donde se utiliza una medición polarimétrica. Sin embargo, el método recomendado por la IHC corresponde a la determinación espectrofotométrica de 4-nitrofenol, formado por la degradación enzimática de 4-nitrofenil- α -D-glucopiranosido por acción de la invertasa en la miel, siendo expresada la concentración como invertasa/kg de miel.

La presencia de la enzima glucosa-oxidasa en la miel genera la degradación de glucosa en gluconolactona y eventualmente en ácido glucónico, un mecanismo que genera peróxido de hidrógeno. Esta reacción por una parte aumenta la acidez de la miel y por otra es responsable por la resistencia microbiana de la miel por acción del H_2O_2 . Al igual que otras enzimas presentes en la miel, es sensible a altas temperaturas, pero además a la radiación visible, siendo indicativo de tratamientos térmicos aplicados a la miel. Se han desarrollado varios métodos para su medición, por un lado, la valoración del peróxido de hidrógeno producido mediante la titulación con yoduro; y por otro la determinación espectrofotométrica del peróxido de hidrógeno formados por la miel mediante su reacción con o-dianisidina y peroxidasa.

Conductividad Eléctrica

La conductividad eléctrica es la capacidad de la disolución de miel al 20% de conducir la electricidad. Esta medida está directamente relacionada con el contenido en sales minerales, la cual puede detectar solamente sustancias solubles en agua. La relación del valor de la conductividad es directamente proporcional a la concentración de sólidos disueltos, por lo tanto, cuanto mayor sea dicha concentración, mayor será la conductividad.

La miel puede considerarse un conductor eléctrico secundario, ya que contiene sales minerales, ácidos orgánicos y aminoácidos en solución, por esta razón, que la miel es capaz de conducir la corriente eléctrica cuando se aplica un campo eléctrico, que a su vez es posible medirse y cuantificarse mediante la determinación de la conductividad eléctrica; éste es un dato útil para diferenciar mieles de distintos orígenes.

La conductividad eléctrica es una medición fisicoquímica importante para la autenticación de mieles, su valor depende del contenido de cenizas y ácidos: entre mayor sea su contenido, mayor es la conductividad resultante. Este parámetro fue incluido en años anteriores reemplazando la determinación de cenizas dentro de control rutinario.

Las mieles con bajos contenidos de minerales, que por lo general serán de colores claros, tendrán conductividades bajas, en cambio las mieles con altos contenidos de minerales, que comúnmente serán de colores oscuros, tendrán conductividades altas. Del mismo estudio se desprende que, las mieles provenientes de las flores tendrán valores de conductividades eléctricas inferiores, por ende, colores más claros, sin embargo, las mieles de mieladas (o mielatos) presentarán colores más oscuros, por lo tanto, valores de conductividades eléctricas más elevados.

Tabla 2. Normativa vigente en Latinoamérica para los distintos parámetros fisicoquímicos en miel.

| Parámetro | Chile² | Argentina³ | Brasil⁴ | Colombia⁵ | México⁶ | Europa⁷ | USA⁸ |
|-----------------------|--------------------------|------------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|
| Humedad | 20% | 18% | 18% | 20% | 20% | 20% | 20% |
| Cenizas | 0,1% | 4% | 4% | 0,6% | 2.2% | 0,1% | 0,1% |
| CE¹ | 0.8mS/cm | NE* | NE* | 0.8mS/cm | NE* | 0.8mS/cm | 0.8mS/cm |

¹ Conductividad eléctrica, ² Norma NCh 3064-2007, NCh 2981.Of2005, ³ Código alimentario. Capítulo X. Art. 785, ⁴ Instrucción normativa No. 3 de 2001, ⁵ Norma técnica 1273 y ⁶ Norma NMX-FF-094-1998. ⁷ Directiva 2001/110/CE, ⁸ Codex Alimentarius (FAO/WHO) NE*: No específica.

El reglamento chileno para la miel, conocido como CODEX STAN 12-1981, está basado según normas internacionales del Codex Alimentarius, obliga a nombrar en la etiqueta si una miel es de origen floral o de mielato de algunos árboles. En él se especifica un límite de conductividad eléctrica, como se podrá distinguir a continuación:

- Mieles no indicadas en b) o c), y mezclas de las mismas, no más de 0,8 mS/cm (=800 μ S/cm).
- Miel de mielada y miel de castaño y mezclas de las mismas, excepto las indicadas en c), no menos de 0,8 mS/cm (=800 μ S/cm).
- Excepciones: Resa (*Arbutus unedo*), Brezo campana (*Erica*), Eucalipto, Tilo (*Tilia* spp), Brezo “Ling Heather” (*Calluna vulgaris*), “Manuka” o “Jelly bush” (*Leptospermum*), Árbol de té (*Melaleuca* spp).

La determinación de la conductividad eléctrica en la miel se define como la conductividad de 1 ml de una solución de 20 g de miel, en 100 ml de agua, medida a 20 °C utilizando conductímetro. Esta medición se desarrolla según el método armonizado de la Comisión Europea de la miel.

pH

La miel es un medio que contiene diferentes tipos de ácidos débiles que captan y liberan iones hidrógeno (también llamados protones) para mantener una cierta relación entre protones libres y unidos, de acuerdo a su grado de disociación; por lo tanto, el pH es una medida de los protones libres, mientras que la acidez mide ambas, tanto los protones libres como los unidos. Cada alimento tiene valores de pH y acidez que se encuentran en intervalos particulares. La leche tiene un pH de 6,4; la papa tiene el pH cerca de 6,0 y el de algunas frutas ácidas está cerca de 3. En el caso de la miel, los ácidos orgánicos se encuentran parcialmente disociados en el agua, lo cual ocasiona un aumento de los iones H⁺ (ver Tabla 3).

Tabla N 3. pH promedio de algunos alimentos.

| Alimento | pH |
|-----------------|-----------|
| Miel | 3.8 |
| Polen | 4.5 |
| Leche | 6.4 |
| Yogurt | 4.6 |
| Queso madurado | 4.9 – 5.2 |
| Cuajada fresca | 6.4 |
| Suero lácteo | 6.5 |

Los microorganismos como bacterias, mohos y levaduras pueden utilizar como fuente de energía y nutrientes los diferentes componentes presentes en los alimentos (como los azúcares); como subproducto, algunos de ellos pueden producir ácidos orgánicos. La producción de estos ácidos en el alimento causa un aumento de la concentración de iones H^+ y un consecuente descenso del pH.

La medición del pH se realiza con una solución de miel homogenizadas al 10% en agua destilada. A continuación, se mide el pH con un pH-metro digital previamente calibrado. La medida se realiza inmediatamente tras la homogenización, evitando la precipitación de la miel.

Acidez Libre

La miel contiene ácidos orgánicos en equilibrio con sus lactonas. En general, los compuestos ácidos corresponden a menos del 0,5% de los sólidos totales, pero tiene gran influencia en las propiedades fisicoquímicas de la miel. La presencia de ácidos en la miel se debe tanto a que se encuentran en el néctar o mielada, o a que son formados a través de las reacciones enzimáticas de degradación de las azúcares del néctar.

El principal ácido encontrado, corresponde al ácido glucónico, el cual se forma a partir de glucosa por acción de la glucosa-oxidasa. En la miel, se encuentra en equilibrio con la gluconolactona. Entre otros compuestos que aportan a la acidez de la miel, podemos encontrar ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido láctico y ácido málico.

En los productos apícolas, la acidez y el pH son indicadores de calidad y autenticidad, la presencia y cantidad de ácidos orgánicos es función del área geográfica y botánica circundante al apiario. En algunos casos la acidez de la miel, si sobrepasa los límites establecidos en la regulación, puede ser utilizada como un indicador de fermentación o contaminación.

Según la EUC Directive 110/2001, la acidez libre de la miel debe ser menor a 50 miliequivalentes/kg; considerando que las mieles de mielada pueden tener valores de acidez y pH más grandes que las mieles de néctar. El Método Oficial de la AOAC 962.19 llamado por el nombre de “Acidez de la miel” es ampliamente utilizado, método que consiste en la titulación de la muestra disuelta en agua destilada con hidróxido de sodio, hasta alcanzar un determinado pH. La medición potenciométrica se basa en la diferencia de potencial o voltaje, registrada por dos electrodos sumergidos en una solución de muestra. Uno de los electrodos es de referencia e independiente del pH de la solución analizada, el otro es sensible a la concentración molar de iones hidrógenos de la solución. Se debe considerar que la acidez de la miel corresponde tanto a lactonas como a iones inorgánicos. Es así como la acidez total de la miel se define como la suma de las sustancias ácidas generadas por lactonas y ácidos libres.

Humedad

La humedad o contenido de agua de una miel, está muy relacionado con su origen botánico, geográfico y de las condiciones ambientales en las cuales fue producida y cosechada. Además, se ha establecido que el contenido de agua en la miel está relacionado con el grado de maduración y el proceso de cosecha de ésta.

La humedad es considerada un parámetro de control de calidad de la miel, estableciendo que el contenido de humedad debiese estar entre un 13 – 25 %, siendo el valor óptimo de 17%. Más específicamente el Codex Alimentarius establece un límite máximo de 20% (p/p) para el contenido de humedad en miel, siendo el mismo valor el establecido por la Unión Europea. Sin embargo, la Directiva Europea establece que existen excepciones, en donde se permite hasta un 23% para la miel de brezo (*Calluna vulgaris*); aceptándose también un porcentaje mayor a 20% para mieles de *Erica* spp., *Trifolium* spp, y *Arbutus unedo* El mismo valor se encuentra establecido en la legislación brasileña y canadiense. Por su parte, la República Checa establece un valor máximo del 18%, mientras que Grecia un 18.5%. El Mercado Común del Sur (MERCOSUR) señala un contenido máximo de humedad en la miel del 20%.

Las mieles con bajo valor de humedad, son más viscosas y difíciles de manejar durante el proceso productivo, mientras que aquellas con porcentajes mayores a 18, son más propensas a

fermentar. Por lo tanto, si la humedad supera este límite es probable que ocurra la fermentación de la miel, dicho con otras palabras:

- $H_2O < 20\%$ → no hay fermentación
- $H_2O > 20\%$ → hay fermentación (depende de su contenido microbiano)

En efecto, para fermentar, además de considerar el contenido de humedad que permite el crecimiento microbiano, hay que considerar el contenido de azúcar presente, es decir, la relación de glucosa/fructosa. Estos carbohidratos pueden convertirse en alcohol, y finalmente en ácido acético, responsable del olor avinagrado de las mieles fermentadas.

Para su determinación, el método propuesto por la IHC corresponde al AOAC 969.38, en donde se utiliza un refractómetro para la determinación.



Figura 3. Refractómetro utilizado para medición de miel.

Para la medición mediante refractometría, es necesario disolver previamente la miel en un baño de agua a no más de 50 °C, adicionando una gota al lector a una temperatura de 20 °C con un refractómetro (Figura 1), estableciendo el contenido de humedad utilizando la tabla de conversión provista en el método de la AOAC (2012). Actualmente, los refractómetros digitales convierten el índice de refracción a contenido de humedad mostrando el resultado en % de contenido de agua.

Otros métodos han sido descritos para cuantificar la humedad en alimentos, como la miel, como, por ejemplo, método gravimétrico (diferencia de peso), método de infrarrojo cercano (NIR), FT-IR, titulación Karl Fischer.

Algunas recomendaciones para obtener miel de calidad, y que cumpla con los límites de humedad son las siguientes:

1. La miel debe ser extraída de la colmena por el apicultor cuando los panales estén operculados, momento en el cual la miel se considera madura y la humedad es menor. Hay que hacer una limpieza regular de la colmena, con renovación de panales de cera nueva para evitar la transmisión de enfermedades a las abejas, y para también prevenir problemas de mohos por humedad excesiva.
2. En el momento de la extracción el panal deberá presentar al menos sus 2/3 partes operculado, pues de lo contrario se obtiene una miel inmadura, con mucha humedad y de fácil fermentación. Al envasar la miel se deben llenar los tarros al máximo, para evitar que quede espacio vacío debajo de la tapa, lo que favorecería su fermentación.
3. En los locales de almacenamiento de material apícola o en los que se extrae la miel, se envasa, etc., se recomienda una humedad de alrededor del 50% y una temperatura de 10°C, condiciones ideales para conservar el producto en buenas condiciones y que su sabor y aroma no aparezcan alterados.

Color

El color natural de la miel se debe fundamentalmente a la fuente floral de donde la abeja ha recolectado el néctar. La planta es quien le transfiere los pigmentos vegetales, entre otros componentes, que contribuyen a constituir este atributo de apariencia. Es por esta razón que existe un vasto espectro de colores, el cual puede variar desde casi incoloro a ámbar oscuro, y presentar un sinnúmero de tonalidades amarillas, rojizas y cafés respecto al aroma y sabor de la miel recién extraída de la colmena.

Popularmente existe la idea de que la miel debe cumplir ciertos estándares de color, aroma y sabor para ser considerada de buena calidad y no presentar adulteración. Sin ir más lejos, un estudio realizado en la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata, titulado “Percepción del consumidor de miel de abejas en la ciudad de La Plata”, concluyó que existe la preferencia de mieles de colores claros por sobre los oscuros, debido a que esta se asocia como un producto de sabor y aroma suave, de mayor pureza y calidad superior.

Esta creencia es errónea, el color oscuro no significa que la miel sea de calidad inferior, por el contrario, se sabe que cuanto más oscura es la miel, más rica en minerales, como potasio, calcio y hierro, además de vitaminas B y C, otorgándole propiedades antioxidantes. Por otro lado, la miel de color claro es más rica en vitaminas A, responsable del crecimiento y formación de células.

En la actualidad, para determinar el color de la miel, se utilizan variados procedimientos. Uno de ellos son las técnicas instrumentales, basadas en la medición de la reflectancia de la muestra empleando instrumentos conocidos como espectrofotómetros. Ejemplo de ello, es el método estandarizado Pfund, basado en la comparación óptica, utilizando un colorímetro Pfund, normalizado internacionalmente. Este sistema fue llevado a cabo por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), el cual clasifica el color de la miel de acuerdo a siete categorías, los valores son expresados en milímetros, como es posible observar en la Tabla 4.

Tabla 4. Designación estándar de color mediante escala Pfund según USDA

| Designación estándar de color | mm |
|--------------------------------------|-----------|
| Blanco agua | ≤ 8 |
| Extra blanco | 8 a 17 |
| Blanco | 17 a 34 |
| Ámbar extra claro | 34 a 50 |
| Ámbar claro | 50 a 85 |
| Ámbar | 85 a 114 |
| Ámbar oscuro | ≥ 114 |

Utilizado en el área técnica, en todo lo que implica el área de control de calidad, en concreto para el análisis de recepción de mercancías, control durante el proceso y control de calidad final. Además, mantiene la cohesión de la familia, gracias a las feromonas que libera, mientras circula por la colmena.

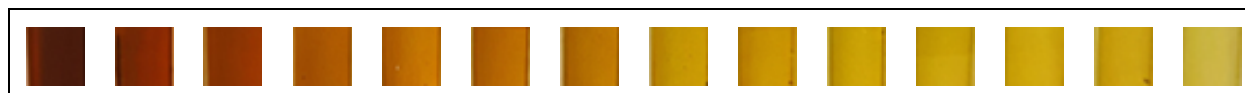


Figura 4. Muestrario de una parte de las mieles analizadas (Región Metropolitana, V, VI, IX, X).

Contenido de Azúcares

Uno de los mayores constituyentes de la miel son los carbohidratos, representado en un gran porcentaje como monosacáridos. Estos son producidos por las abejas durante el proceso de maduración, en donde transforman la sucrosa proveniente del néctar mediante una reacción enzimática. Dentro de los azúcares, en la mayoría de las mieles, la fructosa se encuentra en mayor proporción (32-44%) seguido por la glucosa (23-38%). En mieles de *Brassica napus* y *Taraxacum officinales*, se ha determinado que la glucosa es el azúcar mayoritario. Por otro lado, la presencia de altos porcentajes de sucrosa, pueden indicar que no se ha realizado la hidrolización completa, lo que pueda estar relacionado con el origen botánico o cosechas tempranas que no permitieron la maduración de la miel. Igualmente, es necesario considerar, que no solo el valor nominal de contenido de cada azúcar en la miel se considera como un parámetro de calidad, sino la razón entre estos porcentajes. En general, la razón entre fructosa y glucosa es cercano a 1, para mieles provenientes de néctar.

El Codex Alimentarius establece un valor mínimo de azúcares reductores es de 60 g/ 100g miel; siendo el mismo valor indicado por la Unión Europea (UE). De la misma forma, ambos organismos, establecen un contenido de sucrosa que no puede superar el 5% (p/p), con la excepción de mieles de lavanda (*Lavandula* spp.), eucalipto (*Eucalyptus* spp.) y *Citrus*. En el caso de mieles de mielada, se exige un valor que supere el 40% (p/p). Por su parte, la normativa brasileña establece como valor mínimo de contenido de azúcar un 65%.

Los métodos para su determinación según indica la IHC; corresponde al método AOAC 920.183 que determina el contenido aparente de azúcares reductores, el método AOAC 920.184 para la sucrosa aparente, y los métodos AOAC 977.20; 954.11 y 959.12 para la glucosa por HPLC-IR, cromatografía en columna, y cromatografía en capa fina, respectivamente.

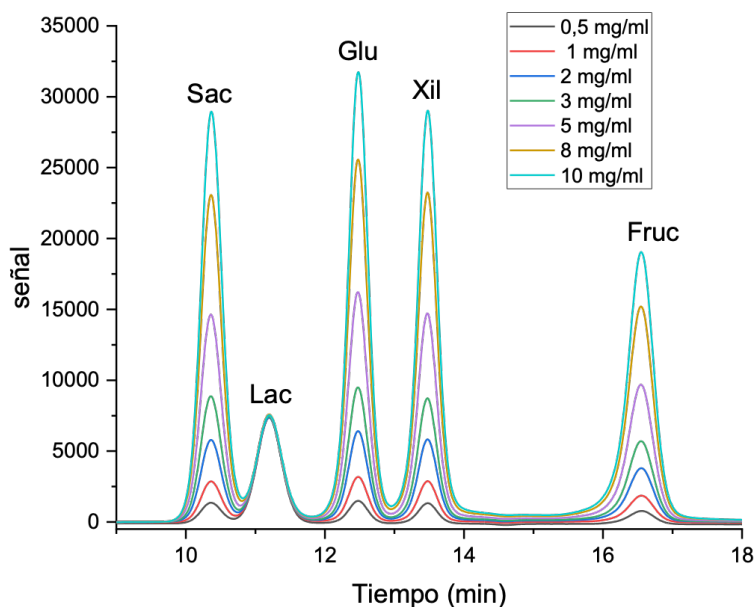


Figura 5. Cromatograma de estándares de azúcares obtenido por HPLC-IR. Sac: Sacarosa, , Glu: Glucosa, Xi: Xilosa y Fruc: Fructosa. Estándar interno de Lactosa (Lac).

Finalmente, el proceso de almacenamiento de la miel es un importante factor para considerar al momento de evaluar el contenido de azúcar, ya que puede observar una disminución en el contenido de azúcar debido a la continua actividad enzimática.

2.2. Análisis para establecer una caracterización nutricional y bioactiva de la miel

En esta sección se detallan características nutricionales y bioactivas presentes en la miel y sus análisis para poder ser cuantificadas

2.2.1. Caracterización nutricional de la miel

Cenizas /sólidos insolubles

El contenido de cenizas en miel generalmente es pequeño, y depende de la composición del origen botánico. La composición y naturaleza del suelo en su relación con las plantas y el entorno que le rodea influyen en la cantidad de minerales presentes en las cenizas y su variabilidad es asociada en una forma cualitativa con el origen botánico y geográfico. Actualmente, esta determinación está siendo desplazada por la medición de la conductividad eléctrica, método indirecto para la determinación del contenido total de minerales en los alimentos.

La ceniza es el producto de la calcinación de algún material compuesto por sustancias no combustibles como sales minerales, que no arden ni evaporan. El contenido de ceniza es incluido

dentro de los reportes de contenido de nutrientes como uno de los componentes proximales de los alimentos, dando un estimado del total mineral del alimento. Los minerales en las cenizas están en forma de óxidos, sulfatos, fosfatos, nitratos, cloruros, etc., en la cuantificación de este parámetro se estima el total de minerales por una considerable extensión, debido a la presencia de iones.

Generalmente, el contenido de cenizas en mieles de néctar es menor al 0,6% m/m, con la excepción de la miel de castañas, las cuales al igual que las mieles de mielada podrían tener un valor aceptado a menor al 1,2%. Las mieles con mayor cantidad de cenizas son más oscuras y de sabor más fuerte, esto debido a que los componentes minerales influyen en el sabor por su naturaleza alcalina. El contenido mineral de la miel, sobre todo en las mieles oscuras, la convierte en un alimento azucarado con un valor alimenticio superior al de los azúcares refinados y al de los jarabes.

La medición del contenido de cenizas se realiza mediante el método gravimétrico. El procedimiento consiste en la calcinación de la muestra puesta en una mufla adaptada, para luego por diferencia de peso determinar el porcentaje de cenizas presente. Se ejecuta según el Método Oficial de la AOAC 920.181 titulado “Cenizas de la miel”.

Para la calcinación se dejaron las mieles pre-calcinadas en la mufla a 900°C por 6 h, se dejaron enfriar por aproximadamente 15 min dentro de la misma mufla, ya apagada y abierta, luego por 15 min en el desecador y se pesan hasta obtener masa constante.

Recomendaciones para obtener miel de calidad, y que cumpla con los límites de cenizas:

- De preferencia filtrar y/o decantar la miel, para así eliminar cera, restos de hojas, abejas, tierra y suciedad.
- En los locales de almacenamiento el personal a cargo de vigilar la higiene de la miel, deben cumplir con protocolos de limpieza, ya que pueden ser vehículo de material y partículas ajenas a la composición natural de la miel.
- En la planta de manejo del producto se disponer siempre de agua potable para la higiene del personal, el cual utilizará ropas de fácil limpieza.

Proteínas

Las proteínas se han determinado a lo largo del tiempo en mieles, ya que pueden servir como indicadores del origen botánico y geográfico, así como de la frescura y maduración de la miel. En general, no se determinan las proteínas totales, sino más bien se cuantifican los aminoácidos y la prolina. Se han encontrado valores de proteínas totales que varían entre 0,1 y 0,5% en la gran mayoría de mieles reportadas, con la excepción de la miel de *Calluna vulgaris* que ha presentado valores entre 1-2% de proteínas totales. Entre la composición de proteínas presentes se encuentran diferentes enzimas, así como albuminas, globulinas, y nucleoproteínas, sumando más de 20 diferentes tipos.

Uno de los métodos clásicos para la determinación de proteínas consiste en el método de Kjeldahl, sin embargo, no es el preferente para miel, dado que su contenido de compuestos nitrogenados es bajo. Por otra parte, se han postulado determinar proteínas en miel por cromatografía de intercambio iónico, electroforesis en gel y diferentes inmunoensayos.

Aminoácidos

Los aminoácidos libres son responsables de diferentes propiedades de la miel, incluyendo la capacidad antioxidante, pudiendo estar en concentraciones menores al 0,2% en la miel. Cerca de 26 aminoácidos han sido determinados específicamente en diferentes mieles, tales como prolina, alanina, ácido glutámico, leucina, metionina, arginina, entre otros.

El perfil de aminoácidos estaría relacionada tanto a características de la abeja como del origen botánico de la miel. En particular, aminoácidos provenientes del polen serían una fuente importante, mientras que aminoácidos podrían generarse a partir de los procesos enzimáticos de la saliva de abeja. La determinación de aminoácidos se ha desarrollado mediante métodos espectrofotométricos, así como por métodos cromatográficos. En este último tipo de análisis, se ha empleado tanto la cromatografía líquida de intercambio iónico y cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a detección por fluorescencia, como la cromatografía gaseosa posterior a la derivatización de los aminoácidos.

El perfil de aminoácidos también se ha relacionado como indicador de adulteración de miel, así como de la maduración de esta.

Prolina

La prolina es el principal aminoácido en la miel, representando entre el 50-80% del total de aminoácidos. Es particularmente más alto en mieles de mielada que en mieles de néctar, pero presente alta variabilidad por lo que no puede utilizarse como parámetro de diferenciación. Se cree que se produce a partir de las secreciones de la abeja que genera durante la conversión de néctar a miel, por lo que no puede relacionarse con el origen botánico. Sin embargo, si puede correlacionarse con el contenido de enzimas por lo que estaría relacionado con la maduración. En este sentido, una concentración mayor a 200 mg/kg se ha establecido como valor esperable en mieles. La determinación de prolina se basa según la norma AOAC, en la determinación espectrofotométricas del complejo formado entre prolina y ninhidrina. Sin embargo, una determinación más específica se ha utilizado cromatografía líquida de alta eficiencia con detección de fluorescencia.

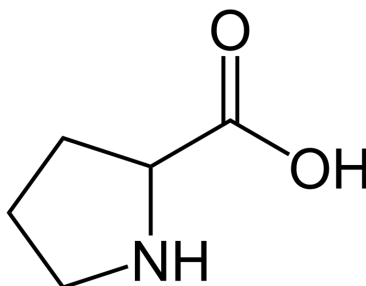


Figura 6. Estructura molecular de prolina

Vitaminas

La miel no es reconocida por su aporte de vitaminas a la dieta, ya que su contenido es muy bajo en comparación a otros alimentos. Además, su aporte está relacionado solo con vitaminas hidrosolubles, ya que el contenido de lípidos es muy bajo.

Entre las vitaminas identificadas, se encuentra principalmente vitamina C, ácido ascórbico, y vitaminas del grupo B. Su determinación en miel es preferentemente por métodos espectrofotométricos y por cromatografía líquida acoplada a detección espectrofotométrica.

Vitamina C

El ácido ascórbico es uno de los suplementos alimenticios más utilizado en la dieta, siendo uno de los nutrientes que proviene de las plantas que más se comercializa. Es un compuesto hidrofílico y penetra a la membrana celular. Si bien su principal actividad biológica corresponde a la capacidad antioxidante, se ha observado que presenta actividad anticancerígena, y frente a diferentes enfermedades como enfermedades de las arterias coronarias, diabetes tipo 2 y demencia.

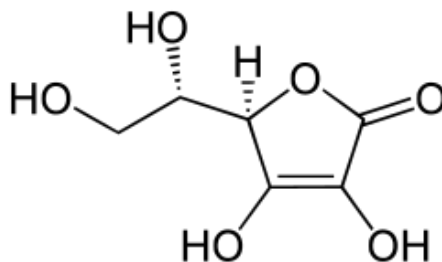


Figura 7. Molécula de ácido ascórbico o Vitamina C.

Siendo una de las vitaminas más estudiadas, el método propuesto por la AOAC para la determinación de ácido ascórbico mediante la valoración con 2,6-dicloroindofenol sea utilizado también para mieles. Así también la determinación espectrofotométrica basada en la reacción con 2,6-diclorofenilindofenol se ha utilizado para medir la vitamina C. Más recientemente la determinación mediante HPLC con detector de espectrofotometría, como una manera de la determinación más precisa y con mejor análisis de concentraciones bajas como las encontradas en miel.

Minerales

El contenido de minerales en los alimentos representa a aquellos que se consideran esenciales para el desarrollo del cuerpo y su normal funcionamiento. Estos incluyen calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, magnesio, hierro, zinc, yodo, cromo, cobre, flúor molibdeno, manganeso y selenio en concentraciones definidas.

El contenido de minerales en miel es generalmente bajo, en valores entre 0,02 y 0,3% en mieles de néctar y hasta de 1% en mieles de mielada. El contenido y composición es determinada tanto por las condiciones climáticas como por el contenido de estos minerales del suelo. Se ha detectado que pueden existir variaciones en el contenido de minerales relacionadas a los procesos

de cosecha de miel, en especial aquellos relacionados con la extracción. Los minerales que se han reportado más comúnmente en mieles en mayores cantidades corresponden a potasio, sodio, calcio y magnesio, mientras que en menores concentraciones hierro, cobre, manganeso y cloro. Se han observado que las mieles más oscuras tienden a tener mayor contenido de minerales que las mieles más claras. Indirectamente la cantidad de minerales puede ser medida por medio de la conductividad eléctrica de las mieles.

Tanto la IHC como los métodos AOAC establecen utilizar el método gravimétrico para la determinación de cenizas y posterior determinación de contenido de minerales totales. Para esto la miel es colocada a temperatura superiores a 600°C para su calcinación y el contenido se determina por diferencia de masa. Sin embargo, dado lo tedioso y largo del proceso, la relación del contenido de minerales con la conductividad eléctrica se utiliza con más frecuencia, considerando que la determinación gravimétrica considera sólidos solubles e insolubles, mientras que la conductividad eléctrica solo da cuenta de los sólidos solubles.

Por otra parte, métodos como espectroscopía de absorción atómica, que se basa en la interacción de las moléculas con la radiación, es utilizado muy comúnmente para el análisis de compuestos específicos en la miel. Otra opción es el uso de plasma de acoplamiento inductivo acoplado a espectrometría de masas, que permite de manera más exacta, determinar la concentración de cada uno de los minerales presentes en la muestra.

2.2.2. Caracterización bioactiva de la miel

Actividad Antioxidante

Aquellas moléculas capaces de retrasar o prevenir la oxidación de otras se les conoce como antioxidantes. Para poder cuantificar la actividad de dichos antioxidantes existen diferentes métodos in-vitro que se detallan a continuación.

Poder antioxidante reductor del ion hierro (FRAP)

El ensayo poder antioxidante reductor del ion hierro o FRAP (sigla en inglés de “Ferric Reducing Antioxidant Potential”), mide la reducción de la disolución de 2,4,6-tripiridil-s-triazina incolora a un producto coloreado. Permite evaluar actividad antioxidante total mediante la capacidad reductora de las muestras. El ensayo se lleva a cabo con la medición de la absorbancia

de 30 μL de muestra de miel diluida (25 μL extracto + 975 agua [2,5 mg miel/ mL]) y luego 270 μL de reactivo, el cual está formado por 1 mL de TPTZ 10 mM + 10 mL de buffer acetato pH 3,6 (0,3 M) + 1 mL de cloruro de hierro (FeCl_3) 20 mM. Una curva de calibrado se prepara para cuantificar la actividad antioxidante utilizando una solución madre de Trolox 5 mM con distintas concentraciones (5 - 30 μM). La placa fue incubada por 30 minutos en oscuridad total a 37 $^\circ\text{C}$ para posteriormente medir la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm. Los valores obtenidos del método FRAP son expresados como micromoles de equivalentes Trolox[®]/100 g de muestra.

Actividad captadora del radical libre DPPH

El DPPH es un radical estable en virtud de la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula, esta deslocalización le otorga la coloración violeta pero cuando reacciona con el antioxidante el cual es capaz de donar un átomo de hidrógeno la coloración se torna amarilla (Figura 8), este cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente es utilizado para determinar las propiedades antioxidantes.

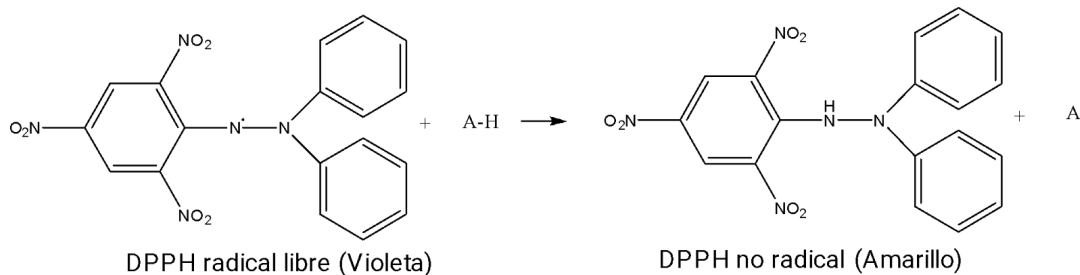


Figura 8. Reacción de decoloración del radical DPPH.

Se prepara una solución stock disolviendo 24 mg de DPPH en 100 mL de metanol, la solución de trabajo se obtuvo mezclando 10 mL de esta disolución con 45 mL de metanol. Esta disolución debe tener una absorbancia de $1,1 \pm 0,02$ a una longitud de onda de 517 nm.

Para la medición se toman 50 μL de muestra de miel diluida (25 μL extracto + 975 agua [2,5 mg miel/ mL]) y se mezclan con 150 μL de la solución de DPPH, esta solución se incubó por 30 minutos y se mide la absorbancia de esta a 517 nm. Para la cuantificación se utiliza una curva de calibrado con Trolox como estándar (40 – 320 $\mu\text{mol/mL}$), los resultados se expresan como micromoles de equivalentes Trolox[®]/100 g de muestra.

Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

El método capacidad de absorción de radicales de oxígeno o ORAC (sigla en inglés de “Oxygen Radical Absorbance Capacity”) ha sido ampliamente utilizado en la evaluación de la capacidad antioxidante de alimentos. Esta metodología mide la protección ofrecida por los antioxidantes a una molécula blanco que está siendo oxidado por los radicales libres a través del tiempo, el cual es interpretado mediante el área bajo la curva (AUC) del perfil cinético correspondiente, según la Figura 9.

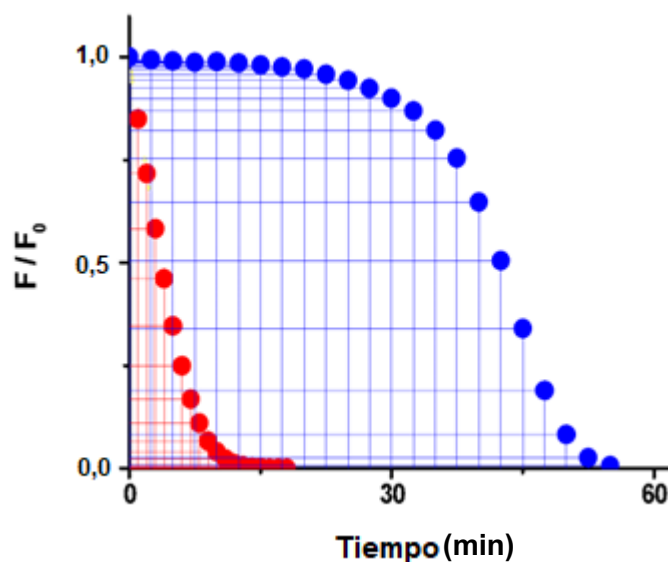


Figura 9. Perfil cinético de la reacción entre una molécula blanco y radicales peróxido, en ausencia (puntos rojos) y en presencia de un antioxidante (puntos azules).

El ensayo ORAC fue propuesto originalmente por Cao, Alessio, y Cutler (1993) utilizando ficoeritrina como molécula diana. En la actualidad, fluoresceína (FL) es la molécula blanco más empleada de acuerdo a lo reportado por Ou, Hampsch-Woodill, y Prior (2001).

Para la medición de la actividad antioxidante, se utiliza en general una disolución de FL 70 nM, miel disuelta (1mg de miel en 1000 μ L de tampón fosfato), AAPH 10 mM, en un volumen total de 250 μ L. El medio de reacción es tampón fosfato 70 mM pH 7,4, manteniendo una temperatura estable de 37 °C. Las variaciones de intensidad de fluorescencia (utilizando λ exc= 485 nm, λ em= 512 nm) fueron registradas cada 1 minuto durante 210 minutos. Para la expresión de los resultados, se utilizó una curva de calibrado de Trolox (2,5-10 nM).

La integración del área bajo la curva de los perfiles cinéticos del consumo de FL en ausencia y en presencia de las muestras estudiadas son comparados con el estándar y se expresan en μ mol TE / g miel de acuerdo con lo siguiente:

$$ORAC = \frac{(A - A_c)}{(A_{Trolox} - A_c)} * F * [Trolox]$$

Dónde:

| | | |
|----------------|---|---|
| A | = | Área bajo la curva en presencia de muestras. |
| A _c | = | Área bajo la curva para el control. |
| A Trolox | = | Área bajo la curva en presencia de Trolox. |
| F | = | Factor de dilución. |
| [Trolox] | = | Concentración de Trolox (antioxidante sintético). |

Otros métodos

Los compuestos antioxidantes tienen diferentes mecanismos de acción, por lo que generan diferentes respuestas a diferentes ensayos. Entre otros análisis que se han empleado en miel para la determinación de su capacidad antioxidante, se encuentra, la capacidad de la miel para decrecer la coloración del radical 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolona-6-sulfónico) que se produce a partir de compuestos oxidantes en el medio. Así también como el ensayo basado en la inhibición por parte de la miel de la decoloración de β -caroteno por acción de oxidantes en el medio o la inhibición de la peroxidación lipídica medida mediante el TBARS (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico).

Actividad Antimicrobiana

La actividad antimicrobiana corresponde a la capacidad que un compuesto, alimento u extracto, en este caso la miel, tiene para inhibir el crecimiento de una población bacteriana o para eliminarla. Dicha actividad puede ser cuantificada mediante ensayos in vitro tal como la prueba de difusión en placa.

Difusión en Agar Soya (Well Diffusion Agar, WDA): las bacterias se sembraron en placas de Petri en forma de césped. Luego, se hicieron 3 bolsillos en el medio de cultivo con un sacabocados 6mm de diámetro. En cada uno de los orificios se colocó una gota de miel estandarizada en el laboratorio, y se dejaron en una cámara de crecimiento a 37°C durante 48 hrs. Pasado este tiempo se revisaron las placas y se verificó en cuál de ellas se produjo la inhibición del crecimiento de la bacteria, midiendo el diámetro del halo formado alrededor del orificio en donde se puso la gota de miel. Como control se utilizaron los antibióticos Penicilina G y Estreptomicina.

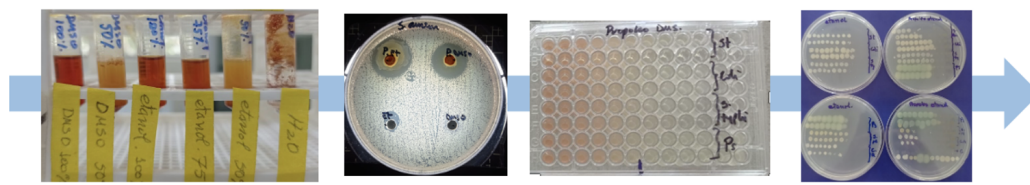


Figura 10. Diagrama de flujo del procedimiento para determinación de la capacidad antimicrobiana.

Polifenoles

Se han identificado varias sustancias en la miel con propiedades antimicrobianas; diversos estudios han encontrado que la principal actividad antimicrobiana se debe a la presencia de peróxido de hidrógeno producido por la enzima glucosa-oxidasa. También, los compuestos fitoquímicos, especialmente los flavonoides y ácidos fenólicos son reconocidos por inhibir un amplio rango de bacterias. Los compuestos fenólicos o polifenoles son uno de los grupos más importantes de compuestos que se producen en las plantas, en el que están ampliamente distribuidos. Los flavonoides y ácidos fenólicos constituyen las clases más importantes de polifenoles, con más de 5,000 compuestos ya descritos. Estos compuestos contribuyen a las

propiedades organolépticas, como el color, el gusto o el sabor de la miel, también tienen actividades antibacterianas y antioxidantes.

Los ácidos fenólicos se caracterizan por la presencia de un esqueleto fenólico el cual se compone de un anillo aromático enlazado a un grupo hidroxilo, frecuentemente se encuentran conjugados como ésteres o glicósidos. La actividad antioxidante que estos compuestos presentan se debe a la capacidad para donar hidrógenos fenólicos, con los cuales pueden captar radicales libres. Existen dos tipos de ácidos fenólicos, los primeros son los derivados del ácido benzoico, en donde encontramos al grupo carboxílico enlazado directamente al anillo aromático (C6-C1) y los segundos son los derivados del ácido cinámico, donde el grupo carboxilo está enlazado a partir de un sustituyente 2-propenilo (C6-C3).

Los flavonoides son una familia de metabolitos secundarios del tipo fenólico que se encuentran ampliamente en la naturaleza. Su estructura base es del tipo difenilpiranos (C6-C3-C6), que se conforma de dos anillos aromáticos enlazados por una cadena alifática de tres carbonos, que por una condensación forman un anillo pirano. El anillo aromático que cicla con el grupo C3 para formar el anillo pirano se denomina anillo A, el ciclo pirano es el anillo C y el anillo restante se denomina anillo B. Debido a la diversidad estructural que presentan los flavonoides, estos son clasificados en varios grupos tales como: flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, antocianidinas, catequinas, leucoantocianidinas, isoflavonas, chalconas.

Los flavonoides tienen la capacidad de catalizar el transporte de electrones, depurar radicales libres, unirse a polímeros biológicos, como enzimas y ADN, también son capaces de quelar iones metálicos como el Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , tienen acciones antivirales y antialérgicas, como también propiedades antitrombóticas y antiinflamatorias, actúan como protectores en enfermedades como la diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías y úlcera estomacal.

La mayoría de los estudios de miel usan la columna de Amberlita XAD-2 para obtener los extractos metanólicos que son utilizados en los diferentes ensayos, para la técnica se ha descrito un 90% de rendimiento y consta de una serie de pasos: 50 gramos de miel se disuelven en 250 mL de agua acidificada (pH 2,0), los cuales son eluidos por la columna Amberlita XAD-2, se lava la columna con los disolventes adecuados, lo obtenido del último lavado con metanol se lleva al

rotavapor donde es concentrado hasta sequedad para finalmente ser resuspendido en 4 mL de metanol.

Determinación de fenoles totales (FT)

La medición del contenido de FT se realiza por el método colorimétrico del reactivo de Folin-Ciocalteu (FC) según Singleton y colaboradores (1965). El reactivo de FC es una disolución formada por una mezcla de ácidos fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) y fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) que, en medio básico, se reducen, oxidando compuestos fenólicos de una mezcla compleja. El uso del ensayo FC para evaluar los compuestos fenólicos totales en ciertos alimentos puede estar limitado por la incapacidad de este ensayo en discriminar entre compuestos fenólicos y compuestos reductores no fenólicos, por lo que se sobreestima el total de fenoles. Es regularmente expresado como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de alimento. El ácido gálico es un compuesto fenólico simple ampliamente empleado como estándar de comparación. El valor indicado refleja el contenido de antioxidantes de una muestra. Se le adicionan en orden 125 μ L de reactivo FC diluido 10 veces junto con 25 μ L de la muestra (1 g miel/ 10 mL agua ultra pura) y 100 μ L de carbonato de sodio 7,5%. Para la cuantificación se realizan curvas de calibrado a diferentes concentraciones de ácido gálico (0 - 140 mg/ L agua).

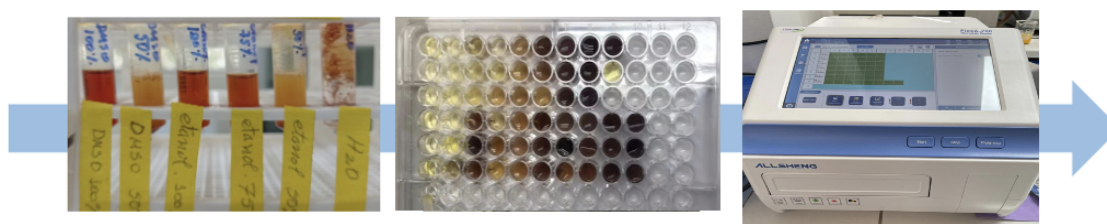


Figura 11. Diagrama de flujo del procedimiento para determinación de la capacidad antioxidante.

Los contenidos de polifenoles totales en mieles oscuras tienden a ser mayor y por consiguiente presentarían actividad antioxidante mayores. A su vez, es esperable que mieles de mielada presentas valores mayores de contenido de polifenoles totales que las mieles de néctar. En diferentes mieles se han observado valores entre 20-270 mg ácido gálico equivalentes / 100 g de miel, existiendo variabilidad inclusive en mieles del mismo origen botánico.

Determinación del contenido de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales se mide por la técnica colorimétrica del AlCl_3 desarrollada por Woisky y Salatino (1998). Este método mide la capacidad de AlCl_3 de formar complejos ácidos con los grupos cetónicos en carbono-4 e hidroxilos en carbono-3' y carbono-4' a 420 nm.

Para la reacción se utilizaron 500 μL de disolución (100 mg de miel diluida en metanol) de cada muestra de miel y 500 μL de solución metanólica de AlCl_3 al 2%. Se deja en incubación la mezcla por una hora a temperatura ambiente y luz natural, luego se mide la absorbancia del complejo formado a una longitud de onda de 420 nm. Los valores obtenidos se analizarán por medio de la curva de calibración de quercetina (5-30 μM) y los resultados se expresan en mg equivalentes de quercetina (QE)/100 mg de miel.

Si bien las mieles oscuras presentan valores mayores de polifenoles totales que las mieles claras, éstas últimas tendrían valores más altos de flavonoides.

2.3. Análisis para establecer la inocuidad de la miel

La miel puede presentar en su composición diferentes compuestos tóxicos, como antibióticos, pesticidas y metales pesados debido a la contaminación ambiental y al mal uso de las prácticas apícolas. Las abejas al recolectar néctar de las flores circundantes pueden regresar a las colmenas con cantidades significativas de contaminantes tóxicos a través de diferentes vías, como lo son el contacto directo con plantas y suelos contaminados, el consumo de polen y néctar contaminado, por inhalación o ingestión directa durante el vuelo o bien por restos de compuestos aplicados en las columnas para controlar por ejemplo infección de *Varroa destructor*.

Residuos Pesticidas

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, sigla en inglés correspondiente Food and Agriculture Organization of the United Nations), los define como «cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos,

productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladoras del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o agentes para evitar la caída prematura de la fruta, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra la deterioración durante el almacenamiento y transporte».

Los plaguicidas se clasifican de acuerdo con el compuesto activo, y suelen actuar como inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa y bloqueando los canales iónicos neuronales de los insectos sobre los que actúan, por ellos se les ha relacionado con la muerte de colmenas a nivel mundial. Los más conocidos son:

- La Flumetrina es un piretroide útil en el tratamiento de la sarna bovina y parásitos externos de perro fundamentalmente como garrapaticida y acaricida.
- El fluvalinato también es un piretroide, que se usa en el control de la varroa.
- El amitraz es un pesticida antiparasitario, miembro de la clase amidina. Es un insecticida y acaricida usado para el control de la araña roja, cochinillas, áfidos, control de mosca blanca y polillas. En animales se emplea en el control de garrapatas, ácaros y pulgas.
- El cimiazol es un antiparasitario, usando en la medicina veterinaria en ganado contra parásitos externos como garrapatas.
- La fumagilina es un antibiótico usado en la lucha contra *Nosema apis*, causante de la Nosemosis. Es un antibiótico aprobado por la mayoría de los países, siendo clasificado como muy efectivo.

Los neonicotinoides son los insecticidas más utilizados en todo el mundo debido a su eficacia contra una amplia gama de plagas de cultivos. Se han utilizado como recubrimientos de semillas, en aplicaciones de suelo y foliares en cultivos agrícolas como semillas oleaginosas, granos, frutas, verduras y plantas ornamentales, muchas de las cuales son atractivas para las abejas melíferas.

El glifosato (N-fosfometilglicina) es uno de los herbicidas más utilizados y se considera no tóxico, no selectivo, sistémico y post emergente. Sin embargo, su uso en exceso ha contaminado suelos y aguas, y sus residuos se han encontrado en el suelo, el agua y los alimentos.

En este sentido, instituciones como la Unión Europea ha establecido límites máximos de residuos (LMR) para un gran número de plaguicidas utilizados en prácticas agrícolas y apícolas, a través del Reglamento (CE) nº 396/2005. La legislación de la Unión Europea (UE) así como la Agencia de Protección Ambiental han regulado los LMR entre valores de 0,05 y 1 mg kg⁻¹; para diferentes familias de pesticidas. Por otra parte, en 2018, la Unión Europea prohibió los tres neonicotinoides principales (clotianidina, imidacloprid y tiametoxam) para uso al aire libre en plantas visitadas por abejas melíferas y ha establecido un límite máximo de residuos (LMR) de 0,05 µg g⁻¹ para los residuos de glifosato en la miel.

Los métodos de barrido de multiresiduos se han implementado para analizar la presencia de pesticidas y antibióticos en las mieles, ya que son capaces de detectar diferentes compuestos de forma simultánea. Generalmente, los procedimientos se basan en una extracción fase sólida, líquido-líquido o una extracción QuEChERS, siendo después determinados los diferentes compuestos por cromatografía de gases y/o cromatografía líquida, acoplada a espectrometría de masas.

Tabla 5. Límites máximos de residuos (MRL) permitidos de los principales contaminantes de mieles para exportar a la unión europea (Adaptado de European Commission No 37/2010 y No 1881/2006).

| Sustancia activa | LMR (mg/kg) | Clasificación | Sustancia activa | LMR (mg/kg) | Clasificación |
|------------------------|-------------|---------------|-----------------------|-------------|---------------|
| Plomo | 0,10 | Metal pesado | Thiabendazole | 0,05 | Pesticida |
| Amitraz | 0,20 | Antiparásito | Thiacloprid | 0,2 | Pesticida |
| Coumafos | 0,10 | Antiparásito | Thifensulfuron-methyl | 0,05 | Pesticida |
| 1-methylcyclopropene | 0,05 | Pesticida | Tribenuron-methyl | 0,05 | Pesticida |
| Acetamiprid | 0,05 | Pesticida | Trifloxystrobin | 0,05 | Pesticida |
| Acibenzolar- S- methyl | 0,05 | Pesticida | 2-phenylphenol | 0,05 | Pesticida |
| Amitraz | 0,20 | Pesticida | Dimethomorph | 0,05 | Pesticida |
| Azimsulfuron | 0,05 | Pesticida | Clomazone | 0,05 | Pesticida |
| Azinphos-methyl | 0,05 | Pesticida | Metconazole | 0,05 | Pesticida |
| Azoxystrobin | 0,05 | Pesticida | Prosulfocarb | 0,05 | Pesticida |
| Bentazone | 0,05 | Pesticida | Beflubutamid | 0,05 | Pesticida |
| Bifenazate | 0,05 | Pesticida | Dicloran | 0,05 | Pesticida |
| Bifenthrin | 0,05 | Pesticida | Fludioxonil | 0,05 | Pesticida |
| Bromoxynil | 0,05 | Pesticida | Trinexapac | 0,05 | Pesticida |
| Chlorothalonil | 0,05 | Pesticida | Propamocarb | 0,05 | Pesticida |
| Chlorpropham | 0,05 | Pesticida | Benthiavalicarb | 0,05 | Pesticida |
| Cyazofamid | 0,05 | Pesticida | Imidacloprid | 0,05 | Pesticida |

| | | | | | |
|-------------------|------|-----------|-------------------|------|-----------|
| Cyromazine | 0,05 | Pesticida | Clothianidin | 0,05 | Pesticida |
| Deltamethrin | 0,05 | Pesticida | Flumetralin | 0,05 | Pesticida |
| Dimethenamid | 0,05 | Pesticida | Metosulam | 0,05 | Pesticida |
| Diquat | 0,05 | Pesticida | Thiamethoxam | 0,05 | Pesticida |
| Ethephon | 0,05 | Pesticida | Pethoxamid | 0,05 | Pesticida |
| Ethofumesate | 0,05 | Pesticida | Picolinafen | 0,05 | Pesticida |
| Etoxazole | 0,05 | Pesticida | Pirimiphos-methyl | 0,05 | Pesticida |
| Famoxadone | 0,05 | Pesticida | Prochloraz | 0,15 | Pesticida |
| Fenamidone | 0,05 | Pesticida | Prohexadione | 0,05 | Pesticida |
| Fenamiphos | 0,01 | Pesticida | Propiconazole | 0,05 | Pesticida |
| Fenhexamid | 0,05 | Pesticida | Propoxycarbazone | 0,05 | Pesticida |
| Fenpropimorph | 0,05 | Pesticida | Propyzamide | 0,05 | Pesticida |
| Fenvalerate | 0,05 | Pesticida | Prosulfuron | 0,05 | Pesticida |
| Flazasulfuron | 0,05 | Pesticida | Pymetrozine | 0,05 | Pesticida |
| Florasulam | 0,05 | Pesticida | Pyraclostrobin | 0,05 | Pesticida |
| Flufenacet | 0,05 | Pesticida | Pyraflufen-ethyl | 0,05 | Pesticida |
| Flumioxazine | 0,05 | Pesticida | Pyridate | 0,05 | Pesticida |
| Fluroxypyr | 0,05 | Pesticida | Pyrimethanil | 0,05 | Pesticida |
| Flurtamone | 0,05 | Pesticida | Penconazole | 0,05 | Pesticida |
| Foramsulfuron | 0,05 | Pesticida | Pendimethalin | 0,05 | Pesticida |
| Ethofumesate | 0,05 | Pesticida | Rimsulfuron | 0,05 | Pesticida |
| Hexachlorobenzene | 0,01 | Pesticida | Silthiofam | 0,05 | Pesticida |

| | | | | | |
|--------------|------|-----------|------------------|------|-----------|
| Imazalil | 0,05 | Pesticida | Spiroxamine | 0,05 | Pesticida |
| Imazamox | 0,05 | Pesticida | Sulfosulfuron | 0,05 | Pesticida |
| Indoxacarb | 0,05 | Pesticida | Maleic hydrazide | 0,05 | Pesticida |
| Iprovalicarb | 0,05 | Pesticida | Penconazole | 0,05 | Pesticida |
| Isoxaflutole | 0,05 | Pesticida | Pendimethalin | 0,05 | Pesticida |

Antibióticos

Los antibióticos son sustancias químicas que destruyen los micro organismos que producen infecciones y enfermedades, principalmente bacterias. De acuerdo con las regulaciones de la UE no se ha establecido ningún LMR para los antibióticos en la miel, solo un límite mínimo de rendimiento requerido para el cloranfenicol en miel recomienda 0,3 µg/kg, como el contenido mínimo a detectar y confirmar por los laboratorios. Por otro lado, algunos países han establecido límites de acción o niveles de tolerancia para algunos antibióticos en la miel, como para las tetraciclinas y para la suma de todas las sulfonamidas a 20 µg/kg en Bélgica y a 50 µg/kg en Gran Bretaña; Suiza ha establecido un nivel de tolerancia de 20 µg/kg y Francia un límite de conformidad de 15 µg/kg para tetraciclinas. Debido a la situación legislativa poco clara, en algunos países todavía se aplica una tolerancia cero para los residuos de antibióticos. En Italia, en 2017, el Plan Nacional de Control de Residuos indicó límites de detección de 5 µg/kg para sulfonamidas, tetraciclinas y macrólidos y 1,3–1,6 µg/kg para los métodos confirmatorios de aminoglucósidos.

La Directiva 2377/90 de la Comisión de la Unión Europea (UE) establece que las mieles deben estar libres de contaminación por antibióticos, por lo que las mieles que contienen estas sustancias no pueden venderse en la mayoría de los países de la UE y no se han establecido límites máximos de residuos de antibióticos.

En la miel se han encontrado principalmente compuestos de las familias de:

- Las sulfonamidas son antibióticos utilizado para combatir al ácaro de la varroa, y en el tratamiento de loque americano. Sin embargo, no son de común aparición, ya que en Estados Unidos ha sido prohibido.
- Las tetraciclinas se han aplicado comúnmente en el tratamiento de muchas infecciones bacterianas del sistema digestivo, el sistema respiratorio y la piel. También se utiliza como estimulante del crecimiento en animales, de ahí su uso en algunos países como aditivo para la alimentación animal. El uso de tetraciclinas como estimulantes del crecimiento está prohibido en la Unión Europea.
- Los nitrofuranos son fármacos antibacterianos que se utilizaron en la práctica veterinaria para tratar infecciones del tracto urinario, el sistema digestivo y la piel, y también se utilizaron como conservantes de alimentos. La acción antibacteriana

de los nitrofuranos cubre un amplio espectro de microorganismos (estreptococos, estafilococos, bacilos Gram-negativos). También tienen propiedades antiprotozoales y fungicidas.

- Los aminoglucósidos son un grupo de antibióticos bactericidas, usados contra infecciones provocadas por bacterias Gram-negativas. Los aminoglucósidos más conocidos son la gentamicina, la lincomicina, la neomicina y la estreptomina, bacitracina.
- Las β-lactamas, son una clase de antibióticos usados en la práctica veterinaria para el tratamiento de infecciones bacterianas en animales domésticos y ganado lechero. Estos antibióticos contienen β-lactámicos, que son rotos por ciertas enzimas, las llamadas β-lactamasas, producidas por algunas bacterias. Las más conocidas son amoxicilina, ampicilina, Benzilpenicilina, oxacilina.
- Los macrólidos (Tilosina, Tilmicosina, Oleandomicina, Espiramicina, Neoespiramicina), son aplicados en la práctica veterinaria para tratar infecciones del sistema respiratorio y como estimulantes del crecimiento añadidos a la alimentación animal.
- La familia del cloranfenicol, un antibiótico de amplio espectro actúa sobre diversos patógenos que afectan tanto a humanos como a animales.
- La pleuromutilina y sus derivados son medicamentos antibacterianos que inhiben la síntesis de proteínas en las bacterias. Entre los más conocidos está el tiamulin.

Metales pesados

Los metales pesados, se refieren a un grupo de elementos químicos que suelen tener una densidad mayor a cinco veces la del agua. En general, son tóxicos para los seres humanos, y pueden provocar problemas graves de salud, como daño a órganos, cambios de comportamiento y dificultades con el pensamiento y la memoria. Los síntomas específicos y cómo afectan al ser humano dependen del tipo de metal y de cuánto hay en el cuerpo. Los metales pesados se pueden encontrar en fuentes naturales o ser generadas en procesos mediados por el hombre. Los metales pesados más peligrosos incluyen el arsénico (As), el plomo (Pb) y el cadmio (Cd). El Pb puede dañar el cerebro, los riñones, el sistema nervioso y los glóbulos rojos. Las intoxicaciones por As y Cd son comparativamente menos comunes con la miel, debido a su menor uso, pero la

contaminación con Pb se informa con frecuencia. Otros metales pesados en la miel incluyen cromo (Cr), zinc (Zn), manganeso (Mg), mercurio (Hg) y plata (Ag), todos los cuales son tóxicos para la salud humana y juegan un papel importante como bioindicadores de contaminación ambiental. Los metales pesados llegan a la miel si durante el forrajeo y pecoreo, la abeja entra en contacto con desechos químicos y los gases de escape emitidos o producidos por minas, acerías, áreas industriales y urbanas, o los escapes de gases de vehículos se ha demostrado que aumenta la concentración de ciertos metales en la miel (como el Cadmio, Aluminio, Bario, Manganeso, Níquel, Plomo, Zinc, o Paladio) dependiendo del tipo de flores visitadas por las abejas. La miel también puede ser contaminada durante su procesamiento por los mismos apicultores, por equipos y herramientas utilizados, y por el propio proceso. Los materiales como el aluminio, el acero inoxidable y el acero galvanizado utilizados en herramientas y equipos para el procesamiento de la miel pueden liberar algunos metales contaminantes en la miel (incluidos Aluminio, Cadmio, Cobalto, Cromo, Plomo, Níquel y Zinc). Su determinación se realiza previa digestión ácida de la muestra con plasma de acoplamiento inductivo acoplado a espectrometría de masas.

Adulteración

La adulteración de la miel puede lograrse fácilmente mediante la adición de azúcares provenientes de productos tales como: la remolacha refinada, jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, jarabe de maltosa y almidón; generando así mayores ganancias comerciales.

Varios métodos han sido empleados para la detección de la adulteración de la miel, concretamente: cromatografía en capa fina (TLC, sigla en inglés que corresponde a Thin-layer chromatography), espectrometría de masa de relación isotópica (IR-MS, sigla en inglés correspondiente a Isotope-ratio mass spectrometry), análisis térmico, resonancia magnética nuclear y correlación estadística entre la composición del azúcar; además de evaluar las propiedades de composición, tales como: humedad por índice de refracción, sólidos solubles totales, nitrógeno, viscosidad aparente, HMF, cenizas, minerales (sodio, calcio, potasio), prolina, y actividad diastática. Aunque se ha demostrado la determinación de estos parámetros para evaluar la adulteración de la miel, estos presentan inconvenientes, como: alto consumo de tiempo e insumos y complejo tratamiento de las muestras

Actualmente, la detección de la adulteración en miel se realiza mediante la espectrometría de masas de relación isotópica de carbono estable (SCIRA, sigla en inglés referida a Stable Carbon Isotope Ratio Analysis), de acuerdo con la normativa establecida por la AOAC, si bien tiene algunas ventajas potenciales, es destructiva, costosa y requiere considerables habilidades analíticas que son difíciles de cumplir en el análisis de monitoreo de rutina. Por lo tanto, se ha tornado necesario desarrollar métodos analíticos rápidos, no destructivos, fáciles de usar y de bajo costo para detectar y cuantificar la adulteración en la miel. La metodología de análisis por espectroscopia infrarroja Raman (IR-Raman), se ha presentado como la alternativa a futuro que mejorará la detección de adulterantes en miel, debido a que es un método más simple y sensible. A su vez la resonancia magnética nuclear aparece como un método no destructivo para analizar rápidamente las posibles adulteraciones de miel.

2.4. Identificar la oferta de laboratorios acreditados para las certificaciones de mieles chilenas, considerando las exigencias de los países de destino y precio de los testeos.

Normativa chilena

Una norma según lo define el Instituto Nacional de Normalización (INN, www.inn.cl) “es un documento de conocimiento y uso público, aprobado por consenso y por un organismo reconocido”. Es necesario el conocer y entender las normas, ya que establece los procedimientos y lineamientos que deben seguirse para obtener resultados óptimos y reproducibles.

Existen para Chile varias normativas relacionadas a la miel de abeja que se encuentran en el Instituto Nacional de Normalización y por ende debe velarse por su cumplimiento. La primera con la que se debe familiarizar el apicultor es la Norma Chilena NCh 616 -2007 Miel de abejas – Denominaciones y requisitos; que establece la definición de miel de abeja, así como los requisitos que debe cumplir en el mercado chileno. Así mismo establece las normas que determinan las metodologías a emplear para la obtención de los principales parámetros de calidad según se observa en la Tabla 6.

Tabla 6. Listado de Normativas para la determinación de parámetros de calidad en miel

| Parámetros | Norma chilena |
|-------------------------------|---|
| Contenido de humedad | NCh3026 Miel de abejas – Determinación del contenido de agua |
| Contenido de azúcares totales | NCh574 Miel de abejas – Determinación del contenido de fructosa, sacarosa, turanosa y maltosa – Método HPLC con detector IR |
| Conductividad eléctrica | NCh3064 Miel de abejas – Determinación de la conductividad eléctrica |
| Sólidos insolubles | NCh3047 Miel de abejas – Determinación del contenido de sólidos insolubles en agua. |
| Hidroximetilfurfural | NCh3046 Miel de abejas – Determinación del contenido de hidroximetilfurfural – Método de espectrofotometría UV |
| Actividad de diastasa | NCh3087 Miel de abejas – Determinación de la actividad de diastasa |
| Acidez total | NCh3019 Miel de abejas – Determinación de la acidez libre |

Sin embargo, la Norma Chilena NCh 616-2007, presenta también normas complementarias a las antes descritas, que se relacionan a otras etapas de la producción de miel que de igual forma deben ser consideradas.

Tabla 7. Normas relacionadas a la denominación y requerimientos para miel chilena.

| Otras normas relacionadas |
|---|
| NCh617 Miel de abejas – Método de muestreo |
| NCh1500 Productos alimenticios envasados – Rotulación |
| NCh2047 Microbiología de los alimentos de consumo humano y animal – Condiciones generales para los exámenes microbiológicos |

| | |
|---------|--|
| NCh2981 | Miel de abejas – Denominación de origen botánico mediante ensayo melisopalinológico |
| NCh3102 | Miel de abejas – Determinación de ceniza |
| NCh3109 | Miel – Determinación y recuento de coliformes totales y de <i>Escherichia coli</i> – Técnica del número más probable (NMP) |
| NCh3123 | Miel de abejas – Determinación de <i>Clostridium</i> sulfito-reductores – Método del recuento |
| NCh3130 | Miel de abejas – Buenas prácticas de higiene y procesamiento |
| NCh3142 | Miel de abejas – Determinación del contenido de metales pesados – Método de plasma acoplado inductivamente (ICP) |

Además, como un alimento, la miel debe de regirse en Chile por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA), el cual “establece las condiciones sanitarias a que deberá ceñirse la producción, importación, elaboración, envase, almacenamiento, distribución y venta de alimentos para uso humano”. El RSA vigente corresponde al Reglamento Sanitario de los alimentos Decreto No. 977/96 (actualizado octubre 2016).

Requerimientos para apicultores de miel de exportación

En Chile, como primer paso los apicultores deben cumplir con el Programa Oficial de Trazabilidad Animal (Resolución N°8.196 de 2015), para ello el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) posee un documento oficial llamado Formulario de Registro de Apicultores y Declaración de Apiarios (FRADA), donde los apicultores se registran y declaran sus colmenas indistintamente de la actividad del apicultor (miel, material vivo, polinización u otros).

En cuanto al proceso de exportación de miel comienza con la inscripción del apicultor en el Registro de Apicultores de Miel de Exportación (RAMEX), el cual les permite adquirir la información necesaria para certificar que la miel de exportación es de origen chileno y de apicultores inscritos en el registro. Además, dicho registro garantiza el cumplimiento de los requerimientos, tanto sanitarios como de inocuidad de la miel, exigidos por los servicios oficiales de cada país destino a exportar.

Para llevar a cabo el registro, los apicultores deben basarse en el Manual de Procedimientos de Ingreso y Mantenimiento en el Registro de Apicultores de Miel de Exportación (RAMEX/MP)*, el cual tiene como propósito llevar el registro de los apicultores chilenos que en algún momento quieran exportar, adquirir los documentos necesarios para validar que las mieles de exportación son de origen chileno y de apicultores inscritos en RAMEX y, finalmente, se permite a la miel de exportación de aquellos apicultores registrados en RAMEX la certificación oficial.



Figura 12. Fotografía tomada Apicultor de la Región Metropolitana de Santiago de Chile

* Actualizado de acuerdo con la Resolución N° 6.426 del 26 de septiembre de 2011.

Requerimientos para los establecimientos exportadores de miel

El Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), señala que “todas aquellas personas o sociedades que participen en el proceso de exportación de productos de origen apícola para uso o consumo humano deben cumplir requisitos establecidos para su incorporación en la cadena exportadora de productos apícolas”, como los que se detallan en la Figura 13.

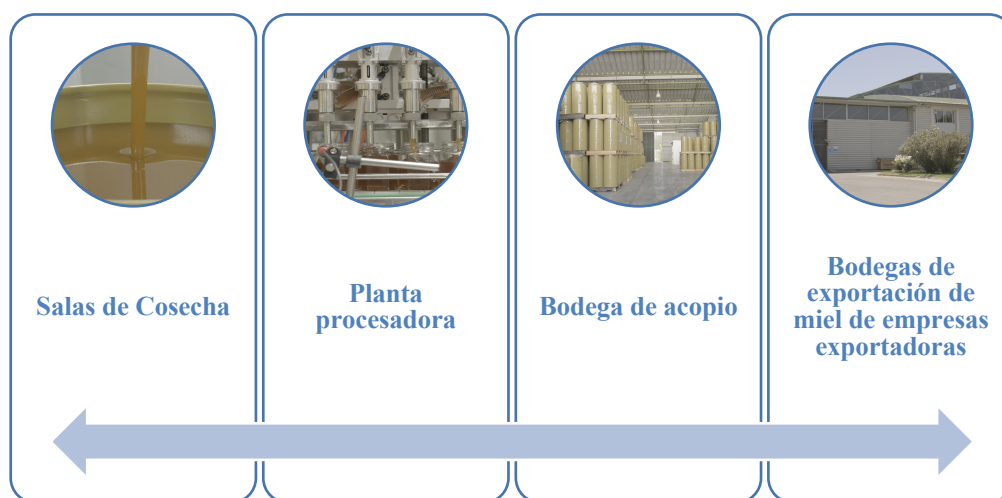


Figura 13. Requisitos establecidos por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) para la exportación de productos de origen apícola.

De acuerdo a la Resolución No. 1.722/2017* las bodegas de exportación (Figura 13), requerimiento para la exportación de productos apícolas, deben estar inscritas en el Listado Nacional de Establecimientos Exportadores de Productos Pecuarios (LEEPP). Previamente, para garantizar en la exportación el cumplimiento de todas las exigencias solicitadas por los servicios oficiales de los países de destino es necesario guiarse por el Manual de Requisitos de Establecimientos Exportadores de Miel** para Ingresar al Listado Nacional de Establecimientos Exportadores de Productos Pecuarios (REEM/MP). Por otro lado, también es de importancia conocer y utilizar el Programa de Control de Residuos en Productos Pecuarios para la exportación de miel, ya que dicho programa presenta la normativa vigente en cuanto a la utilización de productos permitidos y prohibidos, y la verificación del apropiado uso de productos farmacológicos. Otro requerimiento complementario previo a la exportación de miel se encuentra en la Resolución N° 361 (20 de enero de 2006), donde se indica que cada lote producido de miel a certificar debe ser analizado para detectar la presencia de antibióticos y/o bacteriostáticos, tales como el cloranfenicol, estreptomina, nitrofuranos y sulfas.

En el ámbito de los análisis, cabe señalar, que los establecimientos exportadores de miel pertenecientes al LEEPP, que adquieren miel de pequeños productores consideran parámetros y/o criterios a cumplir para recepcionar de la miel (multifloral) de exportación chilena (Tabla 8). Para el caso de mieles monoflorales y/o nativas los parámetros presentan límites más específicos para su origen.

* Actualiza el Sistema Nacional de Inscripción, Mantención y Habilitación de Establecimientos Exportadores de Productos Pecuarios para Consumo Humano y deroga Resolución N° 7.078, de 2011.

** Manual aprobado mediante la Resolución N° 4.784, del 2 de diciembre de 2004, y sus modificaciones posteriores (Resolución N° 520, del 4 de febrero de 2005).

Tabla 8. Análisis de propiedades básicas de evaluación en la miel Multifloral en Chile para ser recepcionada y exportar.

| Propiedades | Parámetros | Límites |
|--|-----------------------------|-------------------------|
| Fisicoquímicas | Humedad (%) | 15 – 19 |
| | Hidroximetil Furfural (ppm) | < 40 |
| | Color | 40 – 70 |
| | pH | 3.3 – 5.6 |
| | PA | Máximo 100 |
| | Gluten | Libre de Gluten |
| | GMO | Libre de GMO |
| | Pasteurizado | Libre de Pasteurización |
| Azúcares (%) | Fructosa | 36 – 50 |
| | Glucosa | 28 – 36 |
| | Sacarosa | 0.8 – 5.0 |
| | Cristalización (F/G) | Min. 1.15 |
| Análisis de Antibióticos (<10 ppb) | Pesticidas | No Detectado |
| | Sulfamidas | No Detectado |
| | Cloranfenicol | No Detectado |
| | Nitrofurano | No Detectado |
| | Estreptomina | No Detectado |
| | Tylosa | No Detectado |
| | Quinolonas | No Detectado |
| Tetraciclinas | No Detectado | |

Análisis y requerimientos exigidos por los servicios oficiales de cada país destino a exportar

La legislación chilena, hoy en día, se ha ajustado a muchos de los valores reportados y requeridos por diversos mercados de destino, incluido la directiva de la unión europea y el Codex Alimentarius.

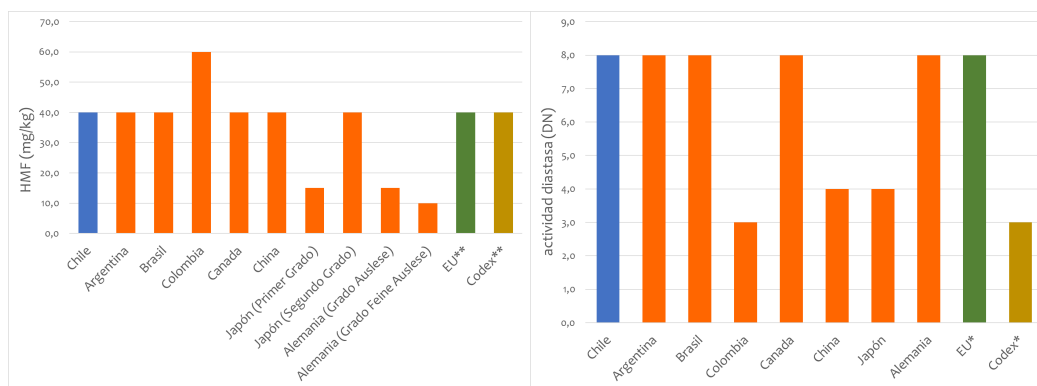


Figura 14. Gráficos de A) hidroximetilfurfural (HMF, mg/kg) y B) actividad de diastasa (DN) exigidos por los servicios oficiales de cada país destino a exportar y valores exigidos por la Unión Europea y Codex Alimentarius.

En cuanto a algunos otros parámetros físicoquímicos exigidos por los servicios oficiales de cada país destino a exportar como la conductividad eléctrica, acidez libre, humedad, contenido de azúcares y contenido de sucrosa son presentados en la Figura 15 y comparados los valores exigidos por la Unión Europea (UE) y el Codex Alimentarius.

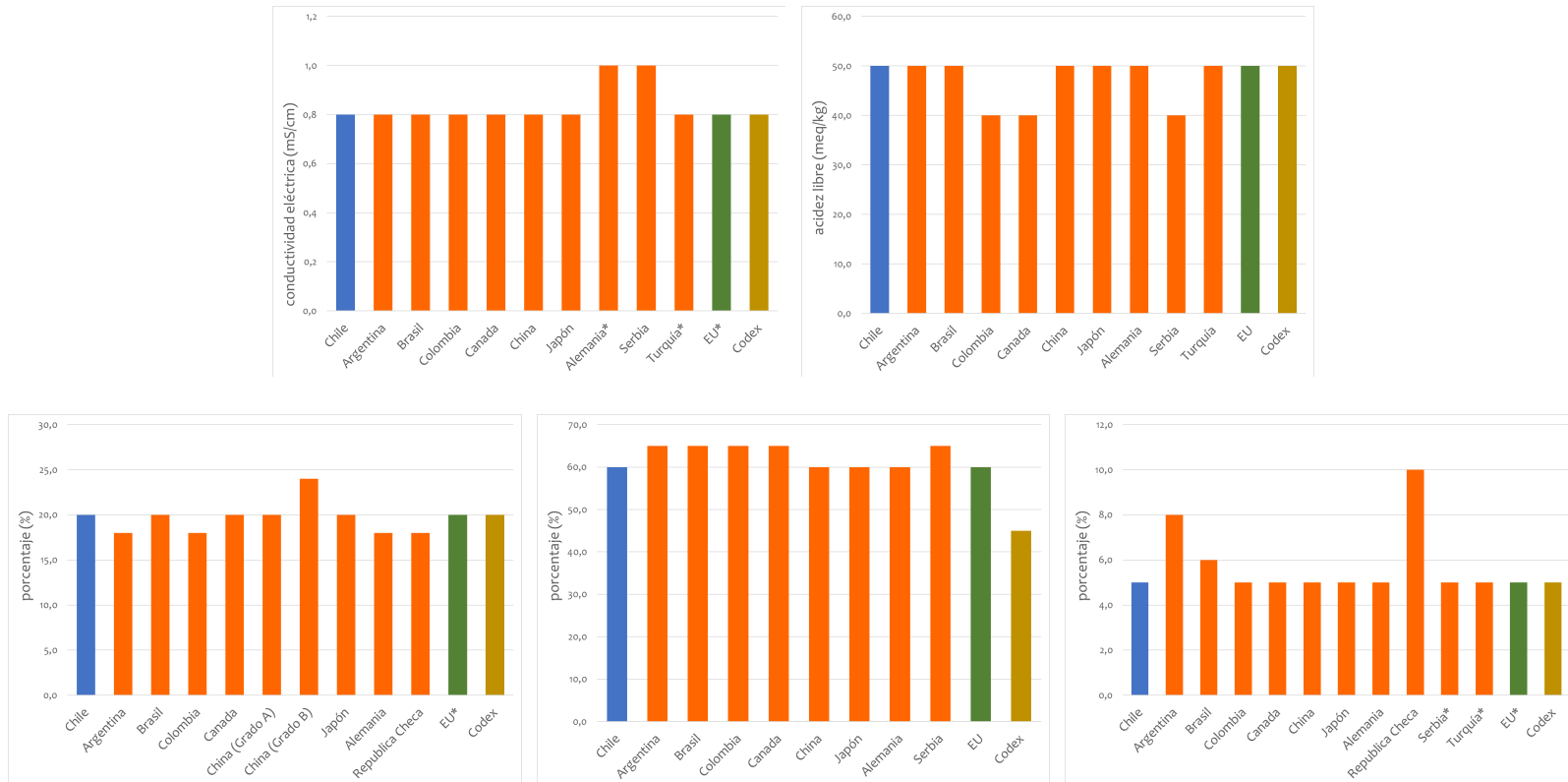


Figura 15. Gráficos de los parámetros exigidos por los servicios oficiales de cada país destino a exportar y valores exigidos por la Unión Europea y Codex Alimentarius.: a) valor máximo de conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$), b) valor máximo de acidez libre (miliequivalentes de ácido/kg), c) valor máximo de humedad (%; *excepción por OB, **excepción por OG), d) valor mínimo de contenido de azúcares (%) y, e) valor máximo de contenido de sucrosa (%). OB: origen botánico, OG: origen geográfico

Capacidad Analítica de los laboratorios en Chile para la exportación de miel

Una de las etapas cruciales en el proceso de exportación de la miel corresponde a la identificación de los laboratorios con capacidad analítica para determinar los diferentes parámetros regulados en cuanto a la calidad e inocuidad de la miel, tanto nacional como internacionalmente, considerando además que cuenten con las acreditaciones analíticas pertinentes.

Actualmente en Chile, existe un repositorio en línea llamado Sistema Integrado de Laboratorios de Alimentos (SILA; www.sila.achipia.gob.cl) creado por la Agencia Chilena para la Inocuidad y Calidad Alimentaria (ACHIPIA) del Ministerio de Agricultura, en donde se reportan las capacidades analíticas de los laboratorios para alimentos y agua. Este repositorio cuenta con 165 laboratorios inscritos de los cuales el 44 % prestan de Servicio a terceros, 26% corresponden a laboratorios de carácter Universitario, 23% laboratorios públicos y un 7% de control interno. Además, dentro del repositorio se pueden realizar búsquedas avanzadas por orden alfabético, tipo de laboratorio, por región, si se encuentra autorizado/reconocido, acreditación y por el tipo matriz a analizar (Figura 16).



Figura 16. Representación de la búsqueda avanzada en el Sistema Integrado de Laboratorios de Alimentos (SILA) de la Agencia Chilena para la Inocuidad y Calidad Alimentaria (ACHIPIA) del Ministerio de Agricultura.

Para la primera etapa del levantamiento de capacidad de análisis de laboratorios en Chile se utilizó SILA realizando la búsqueda a partir de la matriz evaluada, en este caso, miel. La búsqueda arrojó 17 laboratorios de los cuales el 53% corresponde a laboratorios públicos, 29% de servicio a terceros, 12% a universitarios y un 6% de tipo de control interno. Regionalmente, se pudo observar que los laboratorios se encuentran principalmente en la Región Metropolitana de Santiago como se muestra en la Figura 17, lo que hace que la capacidad analítica en regiones sea menor y dificultando el poder realizar análisis para incorporar la miel en el mercado internacional.

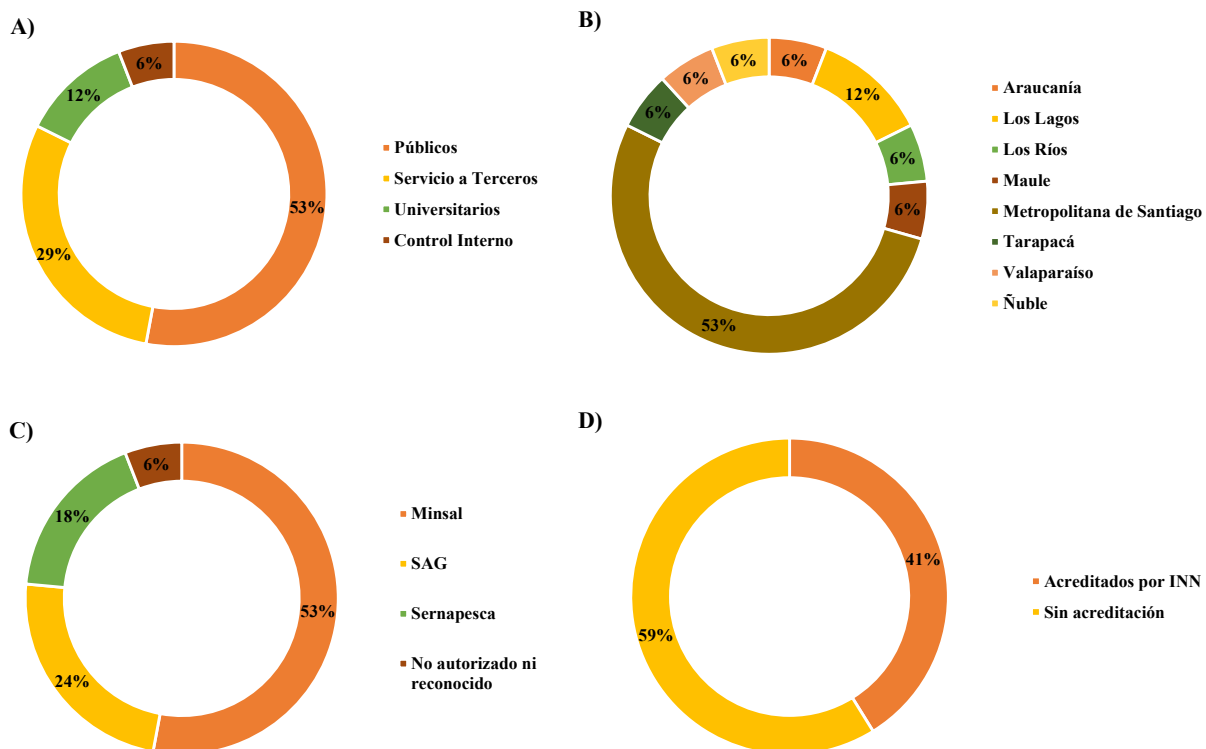


Figura 17. Representación gráfica de la distribución de los laboratorios con la capacidad de análisis para la miel de abeja a partir del repositorio SILA (Sistema Integrado de Laboratorios de Alimentos): a) Por tipo de laboratorio, b) Por ubicación regional de Chile, c) Autorizado/Reconocido por y, d) Laboratorios que cuentan con acreditación de INN (Instituto de Normalización de Chile).

De los 17 laboratorios el 53%, 24% y 18% se encuentran autorizados/reconocidos por el Ministerio de Salud (Minsal), Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) y Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca), respectivamente (Figura 17). A continuación se señalan los laboratorios autorizados/reconocidos por la cada institución señalada anteriormente.

Minsal (6 laboratorios públicos, 3 laboratorios servicios a terceros):

- Instituto de Salud Pública de Chile, Laboratorio del Subdepartamento de Alimentos y Nutrición
- Laboratorio Ambiental de la SEREMI de Salud Araucanía
- Laboratorio Ambiental SEREMI de Salud de los Lagos, Provincia Llanquihue

- Laboratorio Ambiental SEREMI de Salud de los Lagos, Provincia de Osorno
- Laboratorio Ambiental SEREMI de Salud de Maule
- Laboratorio Ambiental SEREMI de Salud de Tarapacá
- Asistec, P. Universidad Católica de Valparaíso
- Farmavet, Universidad de Chile
- Viamed Technical Laboratory S.P.A

SAG (2 laboratorios públicos, 2 laboratorios servicios a terceros):

- Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias Agrícolas y Pecuarias, SAG, Laboratorio de Biotecnología
- Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias Agrícolas y Pecuarias, SAG, Laboratorio de Química
- Farmavet, Universidad de Chile
- Viamed Technical Laboratory S.P.A

SERNAPESCA (3 laboratorios servicios a terceros):

- Asistec, P. Universidad Católica de Valparaíso
- Farmavet, Universidad de Chile
- Viamed Technical Laboratory S.P.A

Continuando, el último análisis realizado en SILA permite identificar 7 laboratorios acreditados por el Instituto Nacional de Normalización de Chile con capacidad analítica para la miel de exportación. En la Tabla 9 se resumen los detalles de cada laboratorio de acuerdo al tipo de laboratorio (Público, Servicio a terceros y Universitarios), el nombre del laboratorio, donde se encuentran ubicado (comuna y región), y el tipo de análisis que realizan o podrían realizar a la miel de abeja *Apis mellifera* L.

En la Tabla 9 podemos observar que Chile presenta laboratorios acreditados y con capacidad analítica para la exportación de miel, sin embargo, como se mencionó anteriormente los laboratorios se encuentran centralizados en la Región Metropolitana de Santiago, siendo esto una debilidad para el mercado de la miel chilena hacia el mercado internacional.

Tabla 9. Identificación de los laboratorios acreditados por el Instituto Nacional de Normalización de Chile con análisis disponibles para realizar a la miel de abeja *Apis mellifera* L, de acuerdo con SILA. (Enumerados en forma aleatoria)

| Tipo de Laboratorio | Laboratorio | Comuna/ Región | Página web | Servicio que realizan o podrían realizar a la miel de abeja <i>Apis mellifera</i> L. |
|----------------------|---|----------------------------------|---|---|
| Público | Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias Agrícolas y Pecuarias, SAG, Laboratorio de Biotecnología | Pudahuel, Región Metropolitana | No tiene | Análisis GMO - CTP2-CP4, todas las especies (PCR tiempo real) - Generico especie (PCR tiempo real) - PAT (PCR tiempo real) - T-NOS (PCR tiempo real) |
| | Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias Agrícolas y Pecuarias, SAG, Laboratorio de Química | Pudahuel, Región Metropolitana | No tiene | Análisis Metales pesados - Cadmio (Espectrofotómetro de absorción atómica, HPLC/Fluor) - Cromo (Espectrofotómetro de absorción atómica) |
| Servivico a Terceros | Farmavet, Universidad de Chile | La Pintana, Región Metropolitana | http://farmaco.veterinaria.uchile.cl/farmavet/ | Residuos medicamentos veterinarios - Clortetraciclina (LC-MS/MS) - Tetraciclina (LC-MS/MS) - Oxitetraciclina (LC-MS/MS) - Sulfadoxina (LC-MS/MS) - Sulfaquinoxalina (LC-MS/MS) - Sulfametaxazol (LC-MS/MS) - Sulfaclopiridazina (LC-MS/MS) - Sulfametazina (LC-MS/MS) - Sulfadiazina (LC-MS/MS) - Sulfatiazol (LC-MS/MS) |
| | Laboratorio OBENS | Ñuñoa, Región Metropolitana | http://obens.cl/laboratorio/ | Análisis Químicos - Fructosa (HPLC-I, refracción) - Glucosa (HPLC-I, refracción) - Lactosa (HPLC-I, refracción) - Maltosa (HPLC-I, refracción) - Sacarosa (HPLC-I, refracción) - Sorbitol (HPLC-I, refracción) - Maltitol (HPLC-I, refracción) |

| | | | | |
|----------------------|--|----------------------------------|---|---|
| Servicios a Terceros | Viamed Technical Laboratory S.P.A | Ñuñoa, Región Metropolitana | http://www.viamed.cl/ | <p><u>Residuos medicamentos veterinarios</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Sulfanomida (HPLC-DAD) <p><u>Análisis Microbiológicos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Aerobios mesófilos a 35°C (Recuento) - Hongos y levaduras (Reuento) - <i>Bacillus cereus</i> |
| | Asistec, P. Universidad Católica de Valparaíso | Valparaíso, Región de Valparaíso | https://laboratoriodeasistecientechnica.cl/index.html | <p><u>Análisis fisicoquímicos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Acidez (Titulación) - Actividad de agua (aw) (Equipo de aw) - Hidroximetilfurfural (Espectrofotometría) - Diastasa (Espectrofotometría) - Azúcares Totales (técnica de Munson y Walker) - Perfil de azúcares (HPLC con detector IR) - Humedad (Gravimétrico) - pH (a 25°C) (pH-metro) - Sólidos solubles (Refractometría) <p><u>Control Nutricional</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Humedad (Estufa-Nch) - Cenizas (Calcinación) - proteínas (Destilación Kjeldahl) - Grasa (NCh hidrólisis ácida) - sodio (EAA) <p><u>Metales pesados y Minerales (EAA)</u></p> <p><u>Análisis Microbiológicos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Aerobios mesófilos a 35°C - Anaerobios sulfitos reductores - <i>Bacillus cereus</i> - Hongos y levaduras |
| Control Interno | NESTLÉ Chile | Macul, Región Metropolitana | www.Nestle.cl | <p><u>Análisis químicos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Acidez (Potenciómetro) - pH (a 25°C) (Electrodo) - Cenizas (no informado) <p><u>Análisis Microbiológicos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Aerobios mesófilos a 35°C - Hongos y levaduras <p><u>Residuos medicamentos veterinarios</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Cloranfenicol (ELISA) |

En general, el que los laboratorios se encuentren acreditados permite contar con el reconocimiento oficial de cada una de las etapas (pruebas, medición y calibración) necesarias para los análisis ofrecidos destacando sus competencias analíticas y logrando conseguir garantizar los resultados entregados.

En una segunda Tabla 10 se presentan aquellos laboratorios que no cuentan con la acreditación del INN de acuerdo SILA, pero si presentan capacidad analítica para realizar los ensayos necesarios para exportar miel, además, algunos de ellos se encuentran reconocidos por otras instituciones (MINSAL, SAG, SERNAPESCA) como se mencionó anteriormente. Además, se puede observar que la capacidad analítica de los laboratorios también se encuentra a nivel de regiones, sin embargo, la acreditación es una debilidad clara al momento de decidir en donde realizar los análisis para la miel de exportación, y obtener la certificación.

Concluyendo, el Sistema Integrado de Laboratorios de Alimentos (SILA) de la Agencia Chilena para la Inocuidad y Calidad Alimentaria (ACHIPIA) del Ministerio de Agricultura, resulta ser una herramienta amigable y sencilla para la búsqueda de servicios analíticos en el ámbito alimentario.

Tabla 10. Laboratorios sin acreditación con análisis disponibles para realizar a la miel de abeja *Apis mellifera* L, de acuerdo con SILA. (Enumerados de forma aleatoria)

| Tipo de Laboratorio | Laboratorio | Comuna/ Región | Página web | Servicio que realizan o podrían realizar a la miel de abeja <i>Apis mellifera</i> L. |
|---------------------|--|--------------------------------|---|---|
| Público | Instituto de Salud Pública de Chile, Laboratorio del Subdepartamento de Alimentos y Nutrición. | Macul, Región Metropolitana | https://www.ispch.cl/ambientes-y-alimentos/subdepartamento-alimentos-y-nutricion/ | <p>Análisis Químicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hidroximetilfurfural (HPLC-UV) - Acidez (Titrimétrico) - pH (Potenciómetro) - Cenizas totales (Gravimétrico) - Azúcares totales (Munson y Walker; HPLC-RID) - Sacarina (HPLC) - Índice de refracción (Refractométrico) - Grados BRIX (Polarimetría) <p>Metales pesados</p> <ul style="list-style-type: none"> - Plomo (ICP-MS) - Cadmio (ICP-MS) |
| | Laboratorio Ambiental de la SEREMI de Salud Araucanía | Temuco, Región de la Araucanía | https://seremi9.redsalud.gob.cl/ | <p>Análisis Químicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Humedad (Gravimetría) - Acidez (Titolometría) - pH (Potenciómetro) - Cenizas totales (Gravimétrico) <p>Metales pesados</p> <ul style="list-style-type: none"> - Plomo (Espectrometría de absorción atómica) <p>Análisis microbiológicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aerobios mesófilos a 35°C (Recuento) - Hongos y levaduras (Reuento) - Bacillus cereus - Aerobios sulfito-reductores (Método no informado) <p>Evaluación sensorial</p> |

| | | | | |
|---------|--|-----------------------------|---|---|
| Público | Laboratorio Ambiental SEREMI de Salud de los Lagos, Provincia de Osorno. | Osorno, Región de los Lagos | www.seremi10.redsalud.gob.cl | <p>Análisis Químicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Humedad (Gravimetría) - Acidez (Titulometría) - pH (Potenciómetro) - Cenizas totales (Gravimétrico) - Proteínas (Kjendhal) <p>Análisis microbiológicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aerobios mesófilos a 35°C (Recuento) - Bacillus cereus (método no informado) - Clostridium sulfito-reductores (Método no informado) |
| | Laboratorio Ambiental SEREMI de Salud de Maule. | Talca, Región del Maule. | Seremi Salud del Maule (redsalud.gob.cl) | <p>Análisis microbiológicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aerobios mesófilos a 35°C (BAM) - Mohos (BAM) - Levaduras (BAM) - Bacillus cereus (método no informado) - Anaerobios sulfito-reductores (ISP) |
| | Laboratorio Ambiental SEREMI de Salud de Tarapacá. | Iquique, Región de Tarapacá | No tiene | <p>Análisis Químicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Humedad (Gravimetría) - pH (Potenciómetro) - Cenizas totales (Gravimétrico) - Proteínas (Kjendhal - Equipo automático) - Grados BRIX (Refractometría) - Sacarosa (Polarimétrico) <p>Análisis microbiológicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aerobios mesófilos a 35°C (Recuento) |
| | Laboratorio de Análisis de Calidad de Miel, INIA. | Chillán, Región de Ñuble | No tiene | <p>Análisis Químicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Humedad (Refractometría) - Acidez Libre (Potenciómetro) - Cenizas totales (Gravimétrico) - Índice de diastasa (Espectrofotometría UV/Vis) - Conductividad eléctrica (Potenciómetro) - Bromopropilato (HPLC-DAD) - Hidroximetilfurfural (HPLC-DAD) |

| | | | | |
|---------------------|--|-----------------------------------|---|--|
| Servicio a Terceros | Servitox | Santiago, Región Metropolitana | https://www.servitox.cl | <p><u>Análisis Fisicoquímicos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Alcaloides (IR) - Análisis de cuerpos extraños (IR-Microscopia electrónica) - Identificación de impurezas (IR) <p><u>Plaguicidas</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Acetamiprid (IR) - Clopiralid (HPLC) - Diclormid (IR) - Piretrinas (HPLC) - Bromuro de metilo (Espectrofotometría UV) - Plaguicidas fosforados (IR, GC/MS, HPLC) - Organoclorados (HPLC, GC/MS/FID) |
| Universitario | Laboratorio de Botánica, Productos Naturales y Cromatografía Líquida, P. Universidad Católica de Chile | San Joaquín, Región Metropolitana | No tiene | <p><u>Análisis Químicos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - pH (pH-metro) - Azúcares totales (Espectrofotometría) - Proteína Total Express (Espectrofotometría) - Fenoles (Espectrofotometría UV/Vis) - Color (escala pfund, espectrofotométrico) - Humedad (Refractometría) <p><u>Metales pesados</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Cadmio (ICP) Plomo (ICP) Cromo (HPLC-MS/MS) <p><u>Análisis melisopalinológico (Microscopio)</u></p> <p><u>Análisis microbiológicos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Staphylococcus aureus</i> (Tradicional) - <i>Escherichia coli</i> (Tradicional) - <i>Pseudomona aeruginosa</i> (Tradicional) - <i>Streptococcus pyogenes</i> (Tradicional) - Recuento total de bacterias <p><u>Actividad Antimicrobiana (Halo de inhibición, mínima concentración inhibitoria)</u></p> <p><u>APF (Active Patagonia Factor)</u></p> <p><u>NHF (Native Honey Factor)</u></p> <p><u>Residuos de medicamentos veterinarios</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Sulfadiazina (HPLC-MS/MS) - Epi-oxitetraciclina (HPLC-MS/MS) - Lincomicina (HPLC-MS/MS) - Nitrofurazona (HPLC-MS/MS) - Nitrofurantoina (HPLC-MS/MS) - Cloranfenicol (HPLC-MS/MS) - Sulfaguanadina (HPLC-MS/MS) - Epi-clortetraciclina (HPLC-MS/MS) |

| | | | | |
|---------------|---|---------------------------------|---|---|
| Universitario | Laboratorio de Fitoquímica, Universidad Austral | de Valdivia, Región de Los Ríos | https://agrarias.uach.cl/laboratorios/laboratorio-de-fitoquimica/ | <p>Análisis Químicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Humedad (Peso específico) - Contenido de Sólidos totales (Refractometría) - Conductividad (Conductimetría) - pH (Potenciómetro) - Color (escala Pfund) (Espectrofotométrico) - Perfil de azúcares (Fructosa, Glucosa, Sacarosa) (Cromatografía de gases) - Ácido oxálico (HPLC) - Azúcares totales (°Brix) - Acidez libre (expresada como ácido fórmico) (Volumétrico) - Cenizas (Gravimetría) - Hidroximetilfurfural (HMF) (Espectrofotométrico) - Sólidos insolubles (Gravimétrico) - Índice de diastasa (°Goethe, Espectrofotométrico) - Fenoles Totales (Espectrofotométrico) - Flavonoides totales (Espectrofotométrico) - Capacidad Antioxidante por FRAP (Espectrofotométrico) <p>Microbiológico (Rec. Colif.totales y fecales, E.Coli) (FDA/BAM on line 2002)</p> <p>Análisis Melisopalinológico (Microscopio)</p> <p>Plaguicidas</p> <ul style="list-style-type: none"> - Clorpirifos Metilo (Cromatografía de gases) - Diacinnon (Cromatografía de gases) - Endrina (Cromatografía de gases) - Fenclorfos (Cromatografía de gases) - Fluvalinato (Cromatografía de gases) - Coumafos (Cromatografía de gases) - 2,4'-DDD (Cromatografía de gases) - Flumetrina (Cromatografía de gases) - Clorpirifos (Cromatografía de gases) - 4,4'-DDT (Cromatografía de gases) <p>Residuos de medicamentos veterinarios</p> <ul style="list-style-type: none"> - Clortetraciclina (Cromatografía gaseosa) - Tetraciclina (HPLC) - Oxitetraciclina (HPLC) - Sulfadoxina (HPLC) - Sulfaclopiridazina (HPLC) - Sulfametazina (HPLC) - Sulfadiazina (HPLC) - Sulfatiazol (HPLC) - Sulfamerazina (HPLC) - Sulfadimetoxina (HPLC) - Sulfacetamida (HPLC) - Sulfaguanadina (HPLC) - Sulfameter (HPLC) - Sulfametizol (HPLC) - Sulfanilamida (HPLC) - Sulfapiridina (HPLC) |
|---------------|---|---------------------------------|---|---|

Cabe señalar, que hay otros laboratorios, centros de investigación e instituciones que realizan o pueden realizar servicios de análisis para miel en Chile y pueden ser encontrados y/o contactados mediante vía web (internet), tales como el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Laboratorio servicios analíticos para la miel de INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias), Centro Tecnológico para la Innovación Alimentaria (CeTA), Analab Chile S.A., LabAlimentos de Universidad de La Serena, Quality-trust labs, Corthorn Quality, Fraunhofer Chile, CEAPIMAYOR (Centro para el Emprendimiento Apícola) de la Universidad Mayor, entre otros. Por otro lado, una iniciativa a destacar en el ámbito de inocuidad y calidad en la miel es el curso de “Detección del Fraude Alimentario” que cuenta con la colaboración de ACHIPIA, CCHEN, OIEA y FAO Chile, enmarcado en dos proyectos: “Creación de Capacidades para la Aplicación de la Ciencia y Tecnologías Nucleares en Sectores Claves para el país (CHI.0021)” y “Apoyar a la Agencia Chilena para la Calidad e Inocuidad Alimentaria en su contribución al fortalecimiento del sistema nacional de inocuidad y calidad alimentaria, en el marco de la Política Nacional de Inocuidad y Calidad de los Alimentos 2018 – 2030 (UTF-CHI-046)”.

Los laboratorios en general entregan diferentes servicios y precio, es por ello, que se realizó una consultoría de los valores de los principales análisis a realizar a la miel con la finalidad de entregar más información desde el punto de la búsqueda de la exportación de la miel.

En cuanto a los valores promedios de precios para los análisis principales en miel podemos señalar que un análisis de barrido de pesticidas los valores se encuentran alrededor de 2.0-3.5 UF, para el barrido de antibióticos entre 3.0-4.0 UF, si nos referimos a los azúcares totales (fructosa, galactosa, glucosa, lactosa, maltosa y sacarosa) por HPLC-IR y los azúcares totales por método DNS con valores entre 5.0-6.0 UF y 1.5-2.0 UF, respectivamente. El análisis proximal que contempla la humedad, proteínas, cenizas y carbohidratos en la miel los valores que se promedios consultados se encontraron entre 2.0-3.0 UF. Un análisis melisopalinológico o de origen botánico al microscopio presenta un valor precio promedio de 2.0 UF. Finalmente, en cuanto a cada parámetro de calidad a evaluar en la miel tal como el contenido de HMF, índice de diastasa, conductividad eléctrica, pH, acidez, color y contenido de azúcares no superan los 1.5 UF para cada análisis.

UF: Unidad de Fomento correspondiente a \$ 33.436,58 consultado 02 de agosto del 2022. La UF según el código ISO 4217, es una unidad financiera reajutable de acuerdo con la inflación.

2.5. Análisis FODA y hoja de ruta para aumentar la oferta y acceso a los laboratorios con capacidad analítica para la exportación de la miel chilena

Análisis FODA del proceso tanto en el mercado interno como externo

A continuación, se presenta un análisis FODA con la finalidad de entregar una herramienta estratégica de planificación mediante un análisis tanto interno (Fortalezas y Debilidades) como externo (Oportunidades y Amenazas) en cuanto al acceso y capacidad de análisis de laboratorios de Chile.

FORTALEZAS

- Laboratorios con capacidades analíticas instaladas, instrumental de última tecnología y acreditados por diversas instituciones nacionales e internacionales. Existen diferentes unidades que realizan el servicio de análisis de miel, tanto en el ámbito público como en el ámbito privado, en donde en general se realizan los procedimientos acordes a las directrices de la AOAC, lo que requiere tanto la infraestructura como el equipamiento descrito en las mismas. En este último aspecto en particular, entre aquellos instrumentos considerados como equipamientos medianos/mayor, es decir lo que requieren de mayor financiamiento para su adquisición y operación, actualmente en Chile existen dentro de diferentes laboratorios.

Además, varios laboratorios cuentan a su vez con acreditaciones nacionales e internacionales que permiten entreguen información con altos estándares de calidad. Se destacan:
- SEREMI Región Metropolitana del Ministerio de Salud, autoriza el funcionamiento del Laboratorio Bromatológico de Salud Pública, en labores analíticas a la autoridad sanitaria relacionadas con los análisis de confirmación del etiquetado nutricional de los alimentos (proximal, vitaminas, minerales, perfil de ácidos grasos, perfil de azúcares, colesterol, polioles, etc.).

Tabla 11. Resumen de las capacidades instrumentales de los laboratorios en Chile (Acreditados, no acreditados)

| Equipo o Instrumento | Análisis | Laboratorio en Chile | |
|---|--------------------------|-------------------------|----------------------------|
| | | Laboratorio Acreditados | Laboratorio No acreditados |
| Espectrofotometría ultravioleta/visible (UV/VIS) | Diastasa | | |
| | HMF | | |
| | Azúcares totales | x | x |
| | Propiedades bioactivas | | |
| Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, sigla en inglés) con detector IR | Azúcares | x | x |
| | | | |
| Cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS/MS, sigla en inglés) | Barrido de antibióticos | | |
| | Bactericidas | x | x |
| | Barrido de residuos | | |
| Espectrometría de masas de plasma acoplada inductivamente (ICP-MS, siglas en inglés) | Análisis de adulteración | x | x |
| Resonancia magnética nuclear de protones (1H-NMR, sigla en inglés) | Análisis de adulteración | | x |
| Análisis Elemental - Espectrometría de Masas de Relación de Isótopos (EA-IRMS, sigla en inglés) | Análisis adulteración | | x |

Siglas en inglés
 UV/VIS: Ultraviolet-visible spectroscopy
 HPLC: High Performance Liquid Chromatography
 LC-MS/MS: Liquid chromatography-mass spectrometry
 ICP-MS: Inductively coupled plasma mass spectrometry
 1H-NMR: Proton nuclear magnetic resonance
 EA-IRMS: Elemental Analysis - Isotope Ratio Mass Spectrometry

- Instituto de Salud Pública de Chile del Ministerio de Salud, autoriza el funcionamiento del laboratorio farmacéutico de control de calidad para realizar análisis químicos y fisicoquímicos de materias primas, productos semielaborados y productos farmacéuticos terminados.
- Laboratorio de ensayo, en la norma NCh-ISO 17025.Of2005 “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración” para el área química para alimentos en el Sistema Nacional de Acreditación.

- Norma Internacional ISO/IEC 17025:2017. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración (Competencia técnica en el campo de los Ensayos Biológicos y Ensayos Químicos).

- Capital humano avanzado especializado, a diferentes niveles y capacidades.
Existe diferentes aspectos relacionados con la formación de capital humano relacionado al acceso de laboratorios para análisis de miel. En conjunto, existen diversas universidades en el territorio nacional que forma tanto a nivel de pregrado como de posgrado profesionales en el área de química analítica, química de alimentos, tecnología de alimentos, ingeniería en alimentos, agronomía, bioquímica, entre otros campos necesarios para este objetivo. Solo en el área específica de alimentos existe una oferta de al menos 5 doctorados, 10 Magister y un número superior de diplomados. Además, diversos institutos profesionales forman analistas químicos que permiten apoyar este trabajo. Además, actualmente profesionales contratados en diferentes instituciones públicas y privadas que se encuentran desarrollando métodos de análisis tanto para verificación de calidad como de inocuidad.

- Alta calidad de la miel chilena, tanto monofloral como polifloral.
La gran variabilidad de las mieles en cuanto a sus características físicas, químicas y organolépticas, son particularidades que le proporcionan una identidad única a cada una. La diversidad de estas características está directamente relacionada con el néctar de la especie vegetal extraída por las abejas, por lo tanto, también de la región geográfica donde se encuentra ubicado el apiario. Según la *ODEPA*, registra que las colmenas de abejas se encuentran en todas las regiones naturales del país, con una mayor concentración en la zona centro y zona sur de Chile.
Desde el punto de vista de la apicultura, gran parte de las plantas son útiles para las abejas y para el posterior desarrollo de la colmena. Bajo este contexto, para que una planta se denomine parte del conjunto de flora apícola debe ser productora de néctar y polen, contar con una adecuada disposición de los elementos florales. Además, se debe considerar que la planta cuente con flores aromáticas, de colores y perfumes

atrayentes. La zona apícola central del país abarca desde la región de Valparaíso hasta la región del Biobío; posee un clima mediterráneo, destacando entre la flora melífera de esta zona: *Quillaja saponaria* (Quillay), *Lithraea caustica* (Litre), y *Cryptocarya alba* (Peumo). Mientras que la zona apícola sur del país se extiende, aproximadamente, entre la región de La Araucanía hasta la región de Los Lagos; donde se desarrolla la Pluviselva Valdiviana, donde las especies melíferas que destacan son: *Eucryphia cordifolia* (Ulmo), *Caldcluvia paniculata* (Tiaca) y *Weinmannia trichosperma* (Tineo).

OPORTUNIDADES

- Aumento en la demanda de análisis por parte del rubro apícola, al verse incrementado la demanda.
- El consumo de productos apícolas es apreciable, principalmente por la miel, el polen y propóleos, además de cera, jalea real y apitoxina, los cuales son ofrecidos a precios competitivos. El contexto nacional apícola, el años 2020, registró una población aproximada de 8777 apicultores y apicultoras. Se declararon cerca de 1,200,000 colmenas agrupadas en más de 16,900 apiarios, generando más de 11,000 toneladas anuales, concentrándose mayoritariamente en las regiones de O'Higgins, Maule y Biobío. Dicha información ha sido registrada por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), mediante el Formulario de Registro de Apicultores y Declaración de Apiarios (FRADA).
- Incremento de exportación de miel chilena con valor agregado.
La Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA) cifra la producción nacional promedio es de 11,000 toneladas anuales, las cuales un 70% se exporta a granel, siendo bajos volúmenes de miel que exporta Chile y no tiene influencia en los precios internacionales. El otro 30% restante, se comercializa en el mercado interno, los cuales son consumidos en el país, en donde el crecimiento acelerado en número de colmenas genera la necesidad de visualizar nuevas oportunidades de

mercado y de establecer parámetros claros de calidad acordes con los estándares internacionales.

- Mejora en las ventas en el mercado nacional, relacionado a las propiedades bioactivas.

Actualmente, el mercado muestra una tendencia creciente por los alimentos naturales, sin residuos, y los consumidores están dispuestos a pagar un valor adicional por productos de alta calidad. Se requiere impulsar modelos tecnológicos que cumplan con los estándares de calidad, incremento y diversificación de colmenas productivas: además de tener en consideración el tópico de agregado de valor del producto, desarrollando programas y proyectos dirigidos al mejoramiento genético, a la polinización y a la caracterización de los productos de la colmena.

- Trabajo interseccional entre instituciones públicas y privadas, y de diversos entornos: productivo, comercial, científico.

La presencia de las asociaciones apícolas privadas del país como, por ejemplo: la Federación Red Apícola Nacional (RAN F.G); la Federación de Cooperativas Agroapícolas de Chile (FEDEMIEL); y la Asociación de Exportadores de Miel (AGEM), en conjunto con entidades del sector público, en concreto: el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG); la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA); el Instituto de Desarrollo Agropecuario (INDAP); y el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), además de la existencia en el rubro académico y tecnológico de algunas casas de estudio, así como: la Universidad Tecnológica Metropolitana (UTEM); la Universidad Austral de Chile (UACH); y el Laboratorio de Ciencias Vegetales de la Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal de la Pontificia Universidad Católica de Chile, por nombrar sólo algunos de los integrantes de la Comisión Nacional de Apicultura, han favorecidos la formulación, elaboración e implementación de políticas para el desarrollo sustentable de la apicultura en Chile, realizando hasta la fecha variados avances como, por ejemplo el mejoramiento de registros apícolas (FRADA-SAG), Seguro Apícola aplicable entre Coquimbo a Los Lagos, Actualización de Perfiles de Competencias Laborales Apícolas

Modificación Reglamento Sanitario Alimentos (Art. 393 y 394). Han coincidido en la creación de iniciativas de investigación y transferencia de tecnología con el propósito de mejorar la competitividad de la cadena en aseguramiento de la calidad, buenas prácticas apícolas, caracterización de productos según aspectos nutricionales, compuestos volátiles, poder antioxidante, actividad antimicrobiana con posibles aplicaciones terapéuticas, presencia de polen como marcador botánico y composición mineral entre otros.

DEBILIDADES

- Laboratorios cuentan con pocos análisis certificados para miel, requisito necesario para que estos sean aceptados en países de destino; todos con un alto costo para el apicultor.

Según el tipo de parámetro a analizar los costos asociados a análisis de calidad de miel pueden alcanzar un precio inicial de 0,5UF (\$16,500 al cambio promedio Julio 2022) pudiendo incluso costar desde 14€ (\$12,922 al cambio promedio Julio 2022; no incluyendo el traslado de muestras) en laboratorios en el extranjero. Menores valores pueden ser observado en laboratorios no certificados.

Sin embargo, estos valores pueden llegar a alcanzar hasta 3 UF (\$99,000 al cambio promedio Julio 2022) para analitos específicos como glifosato, análisis solo de sulfas, etc. Un screening de adulteración por análisis de isótopos estables puede alcanzar un valor de cerca de 200€ (\$124,600 al cambio promedio Julio 2002; no incluyendo el traslado de muestras) en laboratorios internacionales.

Esto debe considerarse que el análisis es por lote (se envasa en las mismas condiciones, un bidón, un depósito, etc.) lo cual puede significar mucho más de un análisis por temporada por apicultor.

- Diferencia y desconocimiento en exigencias de los mercados de destino, si bien existe requerimientos similares.

Los marcos regulatorios si bien buscan un objetivo en común, muchas veces responden a interés públicos y/o situaciones geográficas de los mercados de destinos. A su vez las entidades de vigilancia en los países de destinos cuentan con

sus propios lineamientos, muchas veces heterogéneos, lo que hace difícil establecer estrategias y/o procedimientos para alcanzarlos.

- Baja comunicación entre los diferentes actores de la cadena de valor de los productos apícolas.

En el último año se han visto instancias de coordinación entre los diferentes actores en el sector apícola, aunque existen todavía brechas en la comunicación dentro de la cadena productiva; haciendo que la entrega de información no sea oportuna y en algunos casos escasa.

Hay que considerar que existen además diferentes herramientas para llevar a cabo la transferencia de conocimiento, pudiendo en algunos casos no siendo una forma atractiva para compartir información. Un caso puntual corresponde a la generación de conocimiento desde la academia, la cual muchas veces se transmite a través de publicaciones científicas no disponibles para todos los actores de la cadena productiva.

AMENAZAS

- Baja percepción de la relevancia del análisis entre actores del rubro.

Actualmente en el mercado nacional puede verse la comercialización de mieles fraccionadas, en recipientes generales, sin etiquetado y por ende sin mayor detalle de sus propiedades nutricionales y funcionales.

- Escaso presupuesto para cubrir los costos asociados a los análisis.

Actualmente el apicultor presenta no más de un 25% de utilidades sobre su producción, cuando los gastos asociados a la cosecha son los esperados y se ha maximizado la productividad de sus colmenas y el modelo de comercialización traslada el costo de análisis de cada lote directamente al productor, lo que se estima disminuye en al menos un 30% el ingreso por venta de cada lote. En un cálculo rápido, un lote de 300 kg de miel que se vende a granel en promedio \$2,000/kg, genera un ingreso \$600,000. Si se considera el valor promedio de 0,5UF por

parámetro y se consideran los 8 parámetros de calidad, existe un gasto asociado de \$132,000/lote. Además, para cumplir requerimientos generales de exportación sobre residuos de pesticidas debe invertirse cerca de \$100,000.

No existen actualmente subsidios que permitan cubrir estos costos para el sector apícola.

➤ Competencia desleal en el mercado producto de fraude.

Debido a que la demanda de los productos apícolas supera considerablemente los volúmenes actuales de producción, se han creado inconvenientes, tales como la adulteración y el contrabando de miel. La adulteración de la miel puede lograrse fácilmente mediante la adición de azúcares provenientes de productos tales como: la remolacha refinada, jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, jarabe de maltosa y almidón; generando así mayores ganancias comerciales. Esto considerando que en el mercado al detalle el valor de jarabe alto en fructosa alcanza un precio promedio de \$2,500 por kg, mientras que el precio promedio de miel natural sin diferenciación esta cercano a \$6,000 por kg y diferenciada puede alcanzar hasta los \$10,000 por kg.

➤ Modificación en las legislaciones /exigencias de los mercados de destino, a lo largo del tiempo.

Actualmente existente un sistema de reglamentos y normas alimentarias, basados en lo indicado por el Codex Alimentario y la Directriz Europea, que de acuerdo a ACHIPIA “ corresponden a más de 190 documentos entre leyes orgánicas, decretos, reglamentos, instructivos técnicos y programas” los cuales para mantenerse actualizados van sufriendo modificaciones a lo largo de los años, tanto por las exigencias del mercado como por la actualización de las capacidades instrumentales y tecnológicas requeridas para los ensayos. Esto hace necesario que la proyección del cambio deba ser incluida en cualquier análisis que se requiera frente el acceso de laboratorios para análisis de miel.

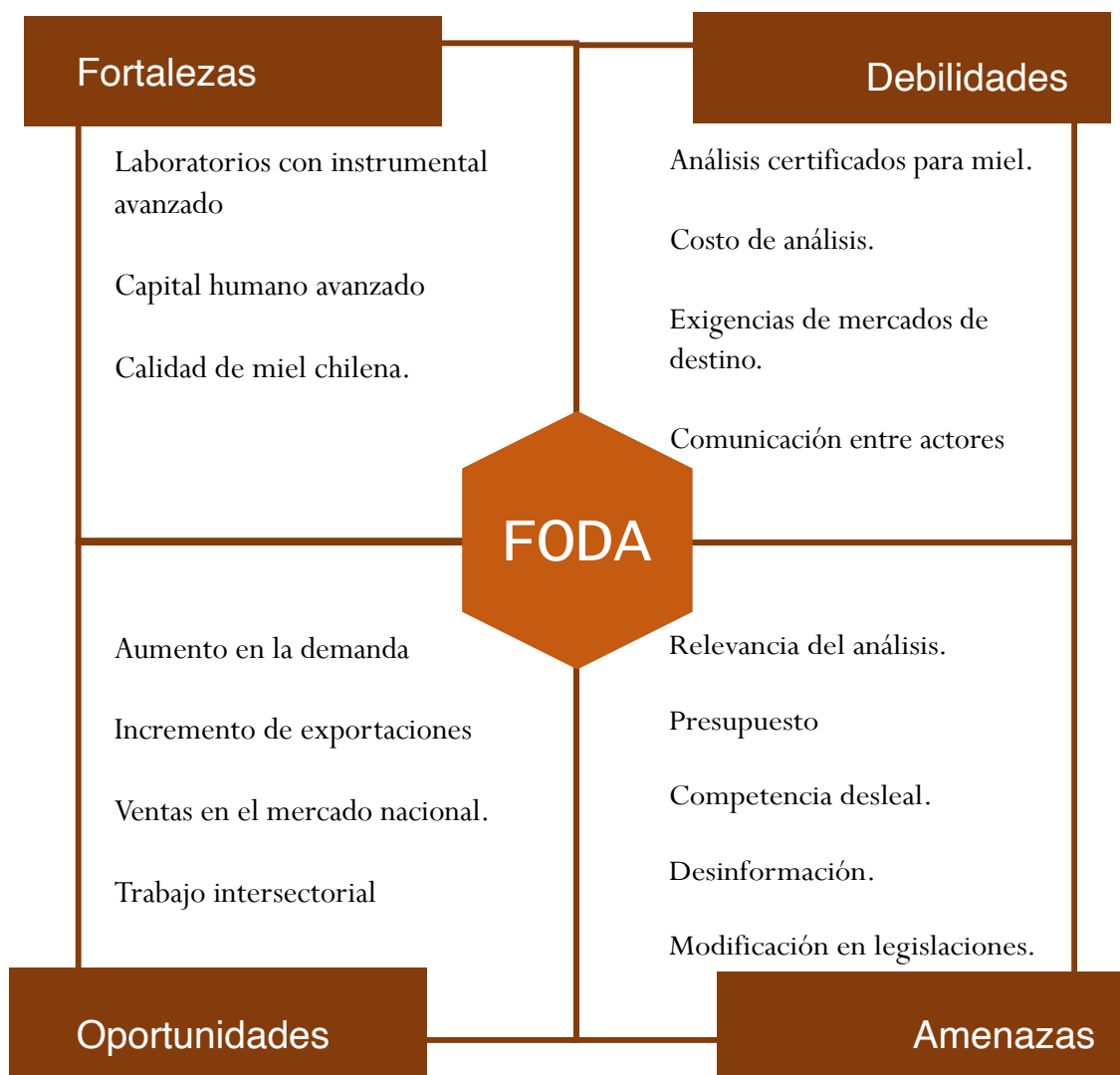


Figura 18. Diagrama del análisis FODA.

Hoja de ruta para aumentar la oferta y acceso a los laboratorios con capacidad analítica para la exportación de la miel chilena

El sector apícola chileno presenta una alta variabilidad en cuanto al destino de su producción. Coexisten en el sector pequeños apicultores que vende únicamente miel a granel, pequeños apicultores que fraccionan y envasan su producción a nivel local; así como también exportadores de miel a mercados internacionales. Esto presenta a su vez variabilidad en los requerimientos de información y análisis que deben llevarse a cabo.

Hay que considerar también, que el sector apícola está muy condicionado al cambio climático, lo que afecta directamente su productividad. Así mismo, el mercado está condicionado por la oferta y demanda de otros mercados, al tratarse muchas veces de comercialización de miel a granel, y en otros casos la venta de miel diferenciada y con valor agregado; donde actualmente existe un mayor interés en alimentos funcionales como es el caso de la miel.

En Chile el SAG tiene un programa pecuario en el cual hace seguimiento a diversos productos, incluido la miel, fiscalizando algunos parámetros de calidad, pero no considera todos los análisis que internacionalmente cada mercado requiere o exige; haciendo seguimiento a algunos analitos, orientado a la seguridad alimentaria más que calidad.

Existen muchos laboratorios en la red nacional que realizan diversos análisis en miel dado que el SAG requiere que los laboratorios autorizados brinden estos análisis, sin embargo, no se realizan todos los necesarios.

En general esto se da en un contexto de desconocimiento, tanto desde la visión del productor como de los laboratorios de análisis; al no existir contacto entre cliente y laboratorio que permita establecer las necesidades de los exportadores de miel en cuanto al análisis de la miel, y por parte del laboratorio una búsqueda de potenciales clientes del área apícola. Esto conlleva una gran desventaja competitiva a nivel país.

Hay grandes exportadoras de otros productos que son emblemáticos (cerezas, vinos, frutillas, arándanos, nueces, etc.) que se han acercado a diversos laboratorios y le han entregado sus requerimientos. En general éstos laboratorios aceptan propuesta de implementación de nuevos análisis en función del volumen de muestra (estudio del mercado), ya que son necesarios una serie de etapas antes de poder brindar el servicio que necesita el cliente (búsqueda bibliográfica, compra de insumos y equipos, validación de la metodología, acreditación de la misma, entre otros), ese costo lo debe asumir el laboratorio (en algunos casos según la complejidad de la muestra y el análisis son valores de varios millones), y a veces, al ser la cantidad de muestra muy limitada o baja, comercialmente no es viable para los laboratorios ofrecer el servicio, ya que será muy caro y por otra parte el cliente a veces no puede costearlo. Por lo tanto, esto requiere por consiguiente hacer un estudio de factibilidad técnica y poder dar una respuesta a estas necesidades. Este proceso

es lento, ya que pueden pasar 6-12 meses entre que se inicie el proceso y se logre acreditar el ensayo, requisito fundamental para exportar (exigencia del mercado).

La presente Hoja de Ruta recoge las principales medidas que pueden ponerse en práctica para aumentar el acceso a análisis de control de calidad en la miel, para potenciar su exportación.

Medida 1. Fortalecer la *accesibilidad a la información*

La medida persigue garantizar que tanto los pequeños apicultores como los exportadores de miel estén en conocimiento de las normativas y exigencias nacionales, así como aquellas de posibles mercados de destino. Herramientas como SILA, páginas web del Servicio Agrícola Ganadero donde se entrega información sobre RAMEX, páginas web del Instituto Nacional de Normalización en donde se encuentran alojadas las normas chilenas; deben ser del conocimiento general del rubro.

Una brecha que presenta el sector apícola es la accesibilidad a los laboratorios de análisis, ya que no existe un listado general de sus servicios y muchas veces se desconoce que en los listados no aparecerá individualizado el análisis para miel, pero que es aplicable a ésta cualquier servicio pensado para alimentos.

Desde otra mirada, la apicultura campesina presenta baja accesibilidad a la información ya que en muchos casos existe escaso acceso a equipo informáticos para realizar búsquedas y/o contacto con respecto a los análisis; profundizado aún en la época reciente, en donde la pandemia limitó aún más el acceso presencial y potenciando los procesos en línea, generando una brecha aún mayor para este sector.

Por ende, para un primer grupo, aquellos con mayor adopción tecnológica, será necesario promover el manejo de las herramientas disponibles para búsqueda de información. Para un segundo grupo, aquellos con menor acceso a el equipamiento, las acciones deben ir más encaminadas a proporcionar dichos equipos.

Realizar un gran compilado con la información de todos los certificaciones requeridas y laboratorios que realizan dichos análisis en el país que sea conocido y al alcance del rubro apícola;

con el objetivo de facilitar revisión y determinación de cuál es que debería realizar el exportador según país de destino.

Realizar capacitación virtual indicando y explicando a los apicultores cual es el objetivo de cada certificación exigida con el objetivo de facilitar el trabajo previo del exportador. El empresario-emprendedor debe conocer previamente cuales son los parámetros exigibles de cada certificación que se le solicitará, para que durante el proceso productivo y de cosecha previo, estas variables sean controladas y manejadas en forma positiva.

***Medida 2.** Establecer mercados de destino prioritarios y los requerimientos para exportación de éstos.*

La medida busca que se defina los mercados de destino objetivo, de manera de poder establecer cuáles son los criterios y aspectos en donde debe potenciarse los análisis de miel, muchos de los cuales se mencionan en el texto. Así también, esta definición, permite el asegurar que los laboratorios que prestan servicios de análisis puedan optimizar, mejorar y/o actualizar las metodologías actualmente utilizadas, de manera de poder apoyar con sus resultados el proceso de exportación del.

Considerando que los requerimientos de análisis y sobre todos los requerimientos para exportación a cada país son variables y muchos de ellos no coinciden con los exigidos por la normativa chilena; es necesario que el apicultor y/o exportadores definan el mercado de destino de su producto. En este aspecto, es necesario también considere que muchas veces no solo es exigido un valor para cada parámetro, sino que además el análisis sea realizado en laboratorios acreditados; y en algunos casos es exigible que los análisis se realicen en el país de origen y sean revalidados por laboratorios certificados en el país de destino. Además, podrían haber dentro de las exigencias del país de destino, análisis por lote de determinado tamaño según la cantidad a exportar.

Para potenciar los laboratorios de servicio es necesario hacer un estudio de mercado de los requerimientos del rubro apícola con respecto a los análisis a realizar esto incluye tanto en función

del número de lotes a analizar, así como los requerimientos del país de destino o bien si va a ser vendido en el mercado local.

En este sentido es importante conocer previamente el catastro nacional de laboratorios que prestan este tipo de servicios en Chile, costos y ubicación geográfica. Así como también cuando sea necesario validar en el país de destino el análisis. Para los emprendedores-exportadores es muy importante conocer previamente los costos involucrados en este tipo de análisis y certificaciones ya que en la mayoría de los casos estos son de alto valor. Generalmente se deben validar anualmente o a veces para cada lote o partida de exportación.

En otro aspecto relacionado, muchas veces es necesario que estos resultados se vean reflejados en la etiqueta correspondiente, siendo esto una limitante al momento de exportar.

La definición del país de destino tiene una importancia previa al análisis en la calidad de miel, ya que muchos de los parámetros exigibles no pueden ser corregidos postcosecha, sino que se ven afectados directamente por el manejo de la colmena durante la producción, así como del proceso de cosecha y almacenamiento. Es decir, lograr los requerimientos para exportar conlleva mejorar las prácticas apícolas; lo que requiere la capacitación del apicultor en relación con actualizar su proceso productivo. Indispensable diseñar e implementar instrumentos de apoyo a la certificación de Buenas Prácticas Apícolas y Trazabilidad al proceso productivo; ausencia o carencia de residuos.

Se debe profundizar en esta área a los apicultores para que las buenas prácticas productivas y de post cosecha, con el objetivo de lograr alcanzar las certificaciones exigidas sean conocidas previamente y puedan hacer un correcto manejo. Las capacitaciones o información clara y detallada en línea se hace fundamental para lograr avanzar en este aspecto.

Medida 3. Trabajo en conjunto con los diferentes sectores para potenciar los análisis de miel en los laboratorios certificados

La coordinación de las acciones relativas a mejorar el acceso del rubro apícola a laboratorios de análisis debe considerar la asociatividad de todos los actores involucrados; de manera de generar una política de análisis de la miel; lo que involucra a:

- Las instituciones públicas que deben velar por los cumplimientos de las normativas
- Las instituciones públicas que realizan análisis
- Las instituciones privadas que realizan servicio de análisis, según demanda
- Los apicultores

Es importante abordar la problemática de manera conjunta e integral, de manera de generar un sistema integrado intersectorial que permita aumentar la oferta de laboratorios certificados.

Medida 4. Potenciar la acreditación de laboratorios que realizan análisis específicos de miel, actualmente no acreditados.

La acreditación es una forma de reconocer y generar confianza sobre la correcta ejecución de los métodos utilizados para los análisis de miel, siendo dichos reconocimientos de validez internacional.

El proceso de acreditación podría conllevar para un laboratorio mejorar tanto infraestructura como en equipamiento, de manera de adecuarse a las normativas vigentes; además de requerir personal altamente capacitado permanente; y lograr mediante herramientas de control que permanezca en el tiempo la capacidad de realizar el análisis según los estándares exigidos por la normativa. Este proceso requiere de tanto de inversión inicial como de mantener gastos de operación, que muchas veces se ven reflejados en los costos de cada análisis.

Es por tanto necesario que se generen programas intersectoriales que permitan dar financiamiento a aquellos laboratorios, en especial aquellos dedicados solo a miel, para lograr este objetivo. Esto a su vez requiere relevar la importancia tanto en el mercado internacional como en el mercado nacional de que todo producto apícola debiese tener análisis que verifiquen su calidad e inocuidad; de manera de aumentar la demanda de análisis y poder por consiguiente aumentar la oferta.

Los polos productivos apícolas se encuentran ubicados hacia la zona sur del país. La existencia de laboratorios acreditados en esta zona facilitaría enormemente el acceso a certificaciones; por lo que se vuelve prioritario propiciar la existencia de laboratorios en regiones, ya que actualmente se encuentran bastante concentrados en la zona centro del país.

Medida 5. Revisión/actualización de normativas nacionales.

La medida busca dar respuesta a los requerimientos de la nueva realidad, revisando la normativa nacional actual, propendiendo a que cumpla con los objetivos para la cual fue implementada. Esto tanto en virtud de los cambios tecnológicos tanto del sector productivo apícola como de los laboratorios de análisis, las actualizaciones de la normativa internacional relacionada a la miel y otros aspectos de la realidad actual que la impacten.

Esta revisión/actualización debe tener participación pública/privada, así como considerar tantos los aspectos productivos como los científicos que avalan la normativa; de manera de no solo modernizar, sino integrar las diferentes políticas y programas que se generan de los diferentes actores de manera articulada.

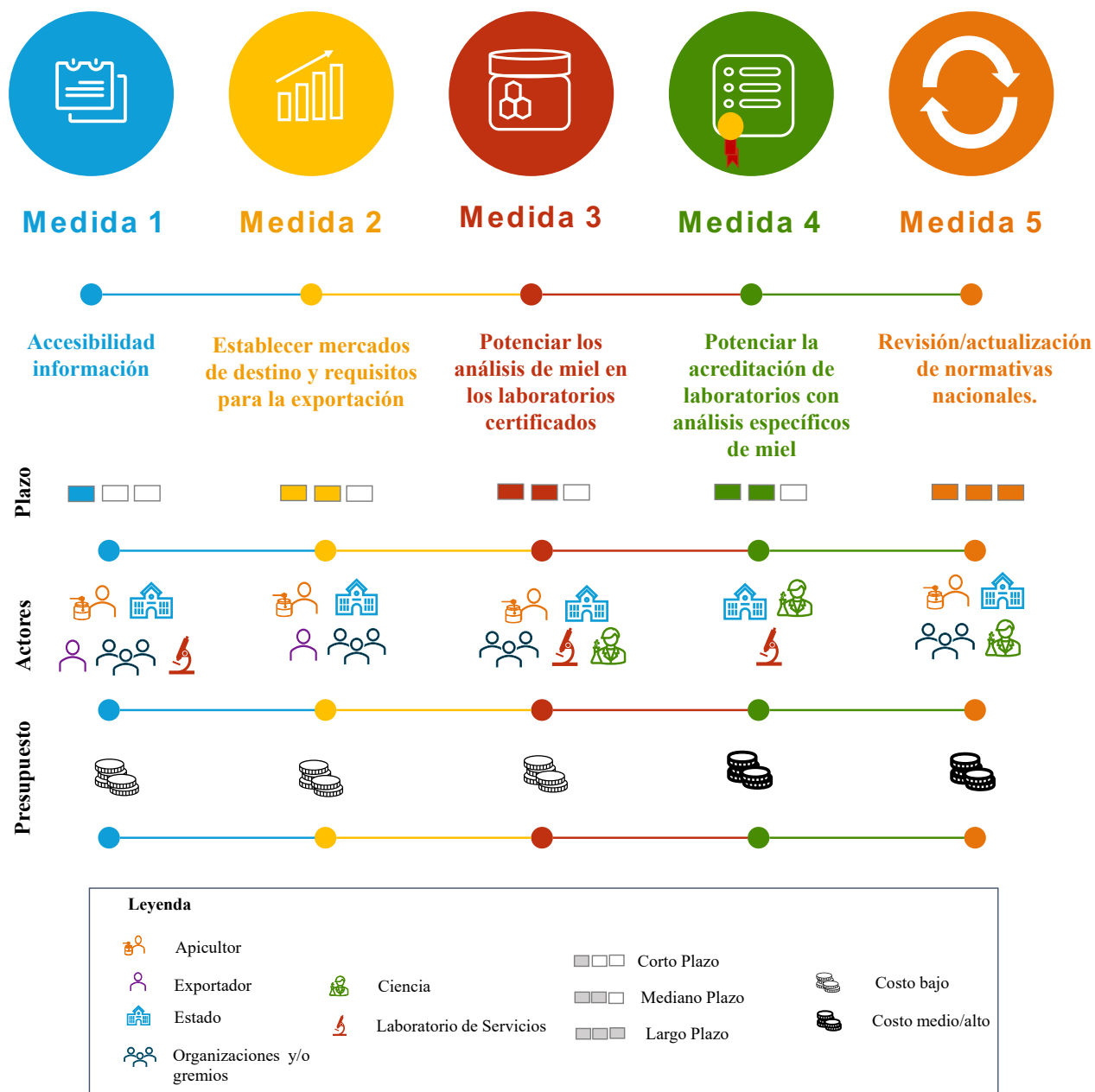


Figura 19. Diagrama de hoja de ruta para aumentar la oferta y acceso a los laboratorios con capacidad analítica para la exportación de la miel chilena

3. Comentarios Finales y Recomendaciones

La miel es un producto reconocido internacionalmente por su valor nutricional, su capacidad antioxidante y antimicrobiana, siendo un producto atractivo en el contexto internacional. Sin embargo, la exigencia de los mercados de destino de la exportaciones de miel han relevado la importancia de contar con laboratorios certificados para el análisis de miel; de manera de cumplir los estándares de calidad y de inocuidad requeridos para alimentos como la miel.

Los grandes exportadores de miel chilena que desde hace más tiempo han orientado su trabajo a mercados exigentes, han logrado incorporar sistemas de análisis, inclusive en el extranjero. Sin embargo los apicultores de menor tamaño y que tienen como destino la venta a granel o el mercado nacional, están rezagados frente al control de calidad y de inocuidad.

Es necesario indicar que una de las razones principales para el retardo en la incorporación de análisis para muchos de los productores empieza por el desconocimiento de la regulación a cumplir, el cual, en el caso del exportador, obliga a la realización de diversos análisis. En un segundo plano, el acceso a la tecnología de análisis y en especial el alto costo que éstos presentan contribuyen a no adhesión a análisis de calidad.

El acceso a laboratorios de análisis en el territorio nacional presente importantes fortalezas las cuales pueden ser potenciadas con un trabajo articulado entre los diferentes actores del proceso productivo de la miel: apicultor – exportador – estado – laboratorios de servicio; el cual se verá beneficiado de trabajo colaborativo con actores secundarios como centros de investigación. Además que existen diferentes iniciativas gubernamentales que ponen el foco en innovación en inocuidad de alimentos, en donde puede incluirse la miel.

Ciertamente existen debilidades que deben abordarse también en conjunto; la entrega de información oportuna de los requerimiento tanto para el mercado nacional como internacional, así como los costos asociados a la realización de los análisis que avalen el cumplimiento de dichos requerimientos debe ser prioridad en la agenda de quienes busquen desarrollar programas de fomento al Gremio Apícola.

Este estudio buscaba entregar un diagnóstico sobre las capacidades y acceso a los laboratorios de análisis de miel, de manera de buscar estrategias que permitan encontrar puntos que puedan impulsar y/o fortalecer la producción de miel chilena.

4. Referencias

- ACHIPIA » Sistema Integrado de Laboratorios de Alimentos (SILA).
<https://www.achipia.gob.cl/inicio/areas-de-coordinacion/area-de-analisis-de-riesgos/sistema-integrado-de-laboratorios-de-alimentos-sila/>. Accessed 15 Jul 2022
- Alam, M. N.; Bristi, N. J.; Rafiqzaman, M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 21 (2013) 143–152.
- AOAC 958.09-1977(2010) Diastatic activity of honey.
- AOAC 980.23-1983. Hydroxymethylfurfural in honey. Spectrophotometric method.
- AOAC 985.25-1986. Color classification of honey. Instrumental method.
- AOAC. 962.19 Acidity (free, lactone, and total) of honey. Titrimetric method, 1977 Edition, 1977 - Acidity (free, lactone, and total) of honey.
- Bargańska, Ż., Namieśnik, J., & Ślebioda, M. (2011). Determination of antibiotic residues in honey. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 30(7), 1035-1041.
- Bentabol Manzanares, Z. H. García, B. R. Galdón, E. R. Rodríguez, and C. D. Romero, “Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition,” *Food Chem.*, vol. 126, no. 2, pp. 664–672, 2011, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.11.003.
- Bogdanov, S. *Harmonised Methods of the International IHC*, no. 5. 2009.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R. and Gallmann, P. “Honey for nutrition and health: A review,” *J. Am. Coll. Nutr.*, vol. 27, no. 6, pp. 677–689, 2008, doi: 10.1080/07315724.2008.10719745.
- Bonerba, E., Panseri, S., Arioli, F., Nobile, M., Terio, V., Di Cesare, F., ... & Chiesa, L. M. (2021). Determination of antibiotic residues in honey in relation to different potential sources and relevance for food inspection. *Food Chemistry*, 334, 127575.

- Bonerba, E., Panseri, S., Arioli, F., Nobile, M., Terio, V., Di Cesare, F., ... & Chiesa, L. M. (2021). Determination of antibiotic residues in honey in relation to different potential sources and relevance for food inspection. *Food Chemistry*, 334, 127575.
- Brazil, Ministerio da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa No. 11. (2000, October 23). Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Diário Oficial da União. Sessão I.
- Bridi, R., Larena, A., Pizarro, P. N., Giordano, A., & Montenegro, G. (2018). LC-MS/MS analysis of neonicotinoid insecticides: Residue findings in Chilean honeys. *Ciência e Agrotecnologia*, 42, 51-57.
- C. Kremen *et al.*, "Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: A conceptual framework for the effects of land-use change," *Ecol. Lett.*, vol. 10, no. 4, pp. 299–314, 2007.
- Canada Agricultural Products Act. (2011). Honey regulations C.R.C. c. 28730/9/2011
- Cao, G., Alessio, H., Cutler, R. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine* 14:3 (1993) 303-311.
- Chandrapala J, Oliver C, Kentish S, Ashokkumar M (2012) Ultrasonics in food processing - Food quality assurance and food safety. *Trends Food Sci Technol* 26:88–98
- Codex Alimentarius Commission (2001) Codex Alimentarius Commission Standards. Codex Stan 12-1981 1–8
- Codex Alimentarius, "CODEX STAN 156-1987 Página 1 de 9," *CODEX Norma Para La Miel*, vol. 1, pp. 1–9, 2011.
- Corvucci, F., Nobili, L., Melucci, D. and Grillenzoni, F.V. "The discrimination of honey origin using melissopalynology and Raman spectroscopy techniques coupled with multivariate analysis," *Food Chem.*, vol. 169, pp. 297–304, 2015, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.122.

- Davies, M.C. "Amino acid analysis of honeys from eleven countries," *J. Apic. Res.*, vol. 14, no. 1, pp. 29–39, 1975.
- de Souza, A. P. F., Rodrigues, N. R., & Reyes, F. G. R. (2021). Glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) residues in Brazilian honey. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 14(1), 40-47.
- Directiva 2001/110/CE del Consejo (2001) de 20 de diciembre de 2001, relativa a la miel. 47
- E. Mendes, E. Brojo Proença, I. M. P. L. V. O. Ferreira, and M. A. Ferreira, "Quality evaluation of Portuguese honey," *Carbohydr. Polym.*, vol. 37, no. 3, pp. 219–223, 1998.
- E. Zandamela, "Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de mozambique," 2008.
- EC. (2005). European community regulation (EC) No 396/2005 of the European parliament and of the council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending council directive 91/414/EEC, official journal of the European Union.
- EFSA. 2015. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate. *Efsa J.* 13(11):4302.
- EPA. 2013. Environmental Protection Agency. 40 CFR Part 180 [EPA–HQ–OPP–2012–0132; FRL–9384–3]. Glyphosate; Pesticide Tolerances. *Federal Register* 78(84), 25396 – 25401. May 1, 2013, Rules and Regulations.
- European Commission (1990). Council Regulation 2377/90. *Official Journal of European Communities*, L224, pp. 1.
- European Commission (2010). Commission Regulation 37/2010, *Official Journal of European Communities*, L15.
- European Commission, Council Regulation 470/2009, *Official Journal of European Communities*, 2009, L151.

- European Commission. (2010). Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Off J Eur Union*, 15, 1-72. EUR-Lex - 32010R0037 - EN - EUR-Lex (europa.eu)
- European Commission. (2015). Commission Regulation (EU) 2015/1005 of 25 June 2015 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of lead in certain foodstuffs.
- European Food Safety Authority (EFSA). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance imidacloprid considering all uses other than seed treatments and granules. *EFSA. Sci. Rep.*, 16 (2) (2018), p. 5178
- FAO. 2020. Food and agriculture organization of the United Nations international food standards. Pesticides Database. http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=158
- Ferreira, E. Aires, J. Barreira, L. Estevinho. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry* 114 (2009) 1438–1443.
- Frausto-Reyes, R. Casillas-Peñuelas, J. L. Quintanar-Stephano, E. Macías-López, J. M. Bujdud-Pérez, and I. Medina-Ramírez, “Spectroscopic study of honey from *Apis mellifera* from different regions in Mexico,” *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 178, pp. 212–217, 2017.
- Fredes and G. Montenegro, “Contenido de metales pesados y otros elementos traza en mieles de abeja en Chile,” *Cienc. e Investig. Agrar. Rev. Latinoam. ciencias la Agric.*, vol. 33, no. 1, pp. 57–66, 2006.
- Girmatsion, M., Mahmud, A., Abraha, B., Xie, Y., Cheng, Y., Yu, H., ... & Qian, H. (2021). Rapid detection of antibiotic residues in animal products using surface-enhanced Raman Spectroscopy: A review. *Food Control*, 108019.

- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., & Rotheray, E. L. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347(6229).
- IHC-International Honey Commission: Harmonised Methods of the International Honey Commission 2002. Available online: <http://www.alp.admin.ch>
- Instituto Nacional de Normalización (2005) Norma chilena NCh2981:2005. <https://ecommerce.inn.cl/nch2981200545022>. Accessed 9 May 2022
- Jakšić S.M., Ratajac R.D., Prica N.B., Apić J.B., Ljubojević D.B., Žekić Stošić M.Ž., Živkov Baloš M.Ž. Methods of determination of antibiotic residues in honey. *Journal of Analytical Chemistry*, 73 (4) (2018), pp. 317-324.
- Jiménez-López, J., Llorent-Martínez, E. J., Ortega-Barrales, P., & Ruiz-Medina, A. (2020). Analysis of neonicotinoid pesticides in the agri-food sector: a critical assessment of the state of the art. *Applied Spectroscopy Reviews*, 55(8), 613-646.
- Juan-Borrás M, Periche A, Domenech E, Escriche I (2015) Routine quality control in honey packaging companies as a key to guarantee consumer safety. The case of the presence of sulfonamides analyzed with LC-MS-MS. *Food Control* 50:243–249
- Li, S., Shan, Y., Zhu, X., Zhang, X., and Ling, G. “Detection of honey adulteration by high fructose corn syrup and maltose syrup using Raman spectroscopy,” *J. Food Compos. Anal.*, vol. 28, no. 1, pp. 69–74, 2012.
- Medina-Cuéllar, S.E., Portillo-Vázquez, M., García Álvarez-Coque, J.M., Terrazas-González, G.H., and Alba-Nevárez, L.L. “Influencia del ambiente sobre la productividad de la segunda cosecha de miel de abeja en aguascalientes de 1998 a 2010,” *Rev. Chapingo, Ser. Ciencias For. y del Ambient.*, vol. 20, no. 2, pp. 159–165, 2014.
- Michalkiewicz, M. Biesaga, et al., Solid-phase extraction procedure for determination of phenolic acids and some flavonols in honey, *Journal of Chromatography A*, 1187 (2008) 18-24.
- Montenegro G, Gómez M, Díaz-Forestier J, Pizarro R (2008) Aplicación de la Norma Chilena Oficial de denominación de origen botánico de la miel para la caracterización de la

- producción apícola. *Cienc e Investig Agrar* 35:181–190
- Oroian, M., Ropciuc, S., Paduret, S. “Honey Adulteration Detection Using Raman Spectroscopy,” *Food Anal. Methods*, vol. 11, no. 4, pp. 959–968, 2018, doi: 10.1007/s12161-017-1072-2.
- Ou., M. Hampsch-Woodill., R. Prior., Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 49 (2001). 4619-4926.
- Pérez, V. “Introducción De *Bombus (Bombus) Terrestris*(Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Apidae) En La Región De Magallanes: Potencial Riesgo Para Las Abejas Nativas,” *An. del Inst. la Patagon.*, vol. 41, no. 1, pp. 147–152, 2013.
- Periago Castón, M. *et al.*, “Quality parameters in different botanical origins of honey produced in the Alpujarra,” *An. Vet. Murcia*, vol. 71, no. 32, pp. 59–71, 2016.
- Puścion-Jakubik A, Borawska MH, Socha K (2020) Modern methods for assessing the quality of Bee Honey and botanical origin identification. *Foods* 9:1–21
- Ramos-Díaz AL, Pacheco-López NA (2016) Producción y comercialización de miel y sus derivados en México.
- Rocha-Estrada, J., & Garcia-Carreño, F. (2008). Insecticidas clásicos y biopesticidas modernos: avances en el entendimiento de su mecanismo de acción. *Biotechnología*, 12(1), 50-62.
- RSA. Reglamento Sanitario de los Alimentos de los Alimentos. Ministerio de salud. República de Chile. 2021.
- SAG, “Manual de Gestión Productiva-Sanitaria Y de Buenas Prácticas Apícolas,” 2018.
- SAG. Servicio Agrícola Ganadero. Registro de Apicultores de Miel de Exportación (RAMEX) | SAG. <https://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/registro-de-apicultores-de-miel-de-exportacion-ramex>. Accessed 18 Jul 2022
- SAG. Servicio Agrícola Ganadero. Requisitos para los Establecimientos Exportadores de Miel (REEM) | SAG. <https://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/requisitos-para-los->

establecimientos-exportadores-de-miel-reem. Accessed 15 Jul 2022

SAG. Servicio Agrícola y Ganadero. Gobierno de Chile. 2021. Reglamento sanidad apícola. <http://www.sag.cl>

Scaglione, “Percepcion del consumidor de miel de abejas de la ciudad de La Plata,” Universidad Nacional de La Plata Facultad, 2015.

Silvano MF, Varela MS, Palacio MA, Ruffinengo S, Yamul DK (2014) Physicochemical parameters and sensory properties of honeys from Buenos Aires region. Food Chem 152:500–507

Singleton, V., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu Reagent, Methods in Enzymology 299 (1999) 152–178.

Singleton, V., Rossi, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16 (1965) 144 - 158.

Solayman, M., Islam, M. A., Paul, S., Ali, Y., Khalil, M. I., Alam, N., & Gan, S. H. (2016). Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 15(1), 219-233.

Ulloa *et al.*, “La miel de abeja y su importancia,” vol. 2, no. 4, pp. 11–18, 2010.

Vargas-Valero, A., Reyes-Carrillo, J., Moreno-Reséndez, A., Véliz-Deras, F., Gaspar-Ramírez, Oc., & Rodríguez-Martínez, R. (2020). Residuos de plaguicidas en miel y cera de colonias de abejas de La Comarca Lagunera. Abanico veterinario, 10, e7. Epub 30 de junio de 2020.

Vásquez Sáez, “Caracterización de mieles de San Pedro de Atacama basada en análisis físicos , químicos y melisopalinológicos Cristian Leonardo Vásquez Sáez,” Universidad Austral de Chile, 2010.

Versión Final Comité - agosto 2006 NORMA CHILENA NCh3026-2006 Miel de abejas -
Determinación

White, J.W. "Honey," in *Advances in Food Research*, vol. 24, no. C, 1978, pp. 287–374.

Woisky, R., Salatino, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control, *Journal of Apicultural Research*, 37 (1998) 99-105

Zhang, Y., Li, X. Q., Li, H. M., Zhang, Q. H., Gao, Y., & Li, X. J. (2019). Antibiotic residues in honey: A review on analytical methods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 110, 344-356.

Zurcher, K., Hardorn, H. Eine einfache kinetische Methode zur Bestimmung der Diastasezahl in Honing. *Dtsch. Lebensmittel Rundsch.* 1972, 68, 209-216