

ARTÍCULO ORIGINAL

Determinación sencilla de mieles puras de *Apis mellifera* L, provenientes del Perú: "prueba del té"

Simple determination of pure *Apis mellifera* L. honey, from Perú: "tea test" Determinação simples de mel puro de *Apis mellifera* L, do Peru: "teste de chá"

Martos Tupes, Agustín 1 (10); Prieto, Zulita Adriana 2 (10)

zprieto@unitru.edu.pe

DOI: https://doi.org/10.35305/agro44.e042

Recibido: Junio 2024 Aceptado: Octubre 2024

Resumen

La autenticación de la miel de *Apis mellifera* L. es importante para proteger a los consumidores de la ingesta de miel adulterada. Las técnicas tradicionales de autenticación de la miel como la espectroscopía infrarroja (FTIR) y la espectroscopía UV-visible, solas o acompañadas de la espectroscopía infrarroja cercana (VIS-NIR) requieren de técnicas sofisticadas y especialistas altamente entrenados. Por esta razón, esta investigación propone una prueba simple, de bajo costo y eficaz para la autenticación de la miel. En este sentido, el objetivo de la presente investigación fue validar la "Prueba del Té" en la autenticación de 16 muestras de miel obtenidas de apiarios y tiendas comerciales de Trujillo, Perú. Cada muestra fue procesada por los métodos "Prueba del Té" y por espectroscopía UV visible en el rango de 190 - 850 nm. Los resultados de la "Prueba del Té" fueron comparados con los resultados de la espectroscopía UV-Visible. Ambas técnicas mostraron concordancia entre ellas en la autenticación de la miel natural y la miel adulterada. Por esta razón, la "Prueba del Té" es una técnica válida para la autenticación de la miel de abejas.

Palabras clave: Miel de abejas, "Prueba del Té", espectroscopía UV-Visible

Abstract

Authentication of *Apis mellifera* honey is important to protect consumers from adulterated honey ingestion. Traditional honey authentication techniques such as infrared spectroscopy (FTIR), UV-Visible spectroscopy, alone or accompanied by near- infrared spectroscopy (VIS-NIR) require sophisticated techniques and highly trained specialists. For this reason, this research proposes a simple, low-cost, and effective test for honey authentication. Thus, the goal of this research was to validate the "Tea Test" to verify authenticity of 16 honey samples taken from apiaries and commercial stores from Trujillo, Perú. Each sample was processed by UV-visible Spectroscopy in the range of 190 - 850 nm and by the "Tea Test" method. "Tea Test" results were compared with UV-Visible spectroscopy results. Both techniques showed similar results for natural and adulterated honey identification. Thus, it was concluded that the "Tea Test" is a valid method for bee honey authentication.

Keywords: Bee honey, "Tea Test", UV-Visible spectroscopy

Resumo

A autenticação do mel de *Apis mellifera* L. é importante para proteger os consumidores da ingestão de mel adulterado. As técnicas tradicionais de autenticação do mel, como a espectroscopia de infravermelho (FTIR) e a espectroscopia UV-visível, isoladamente ou em combinação de espectroscopia de infravermelho próximo (VIS-NIR), requerem técnicas sofisticadas e especialistas altamente treinados. Por esse motivo, esta pesquisa propõe um teste simples, de baixo custo e eficaz para autenticação do mel. Nesse sentido, o objetivo da presente pesquisa foi validar o "Teste do Chá" na autenticação de 16 amostras de mel obtidas de apiários e lojas comerciais em Trujillo, Perú. Cada amostra foi

¹ Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), Av. La Molina s/n, La Molina, Lima, Perú

² Universidad Nacional de Trujillo (UNT), Av. Juan Pablo II s/n, Trujillo, Perú.



processada pelos métodos "Teste do Chá" e por espectroscopia UV-visível na faixa de 190 - 850 nm. Os resultados do "Teste do Chá" foram comparados com os resultados da espectroscopia UV-Visível. Ambas as técnicas apresentaram concordância entre si na autenticação do mel natural e do mel adulterado. Por esse motivo, o "Teste do Chá" é uma técnica válida para a autenticação do mel de abelha.

Palavras chave: Mel de abelha, "Teste do Chá", espectroscopia UV-Visível

Introducción

La miel de abejas aporta sustancias energéticas y nutritivas, siendo, por tanto, un excelente complemento alimenticio debido a su composición cualitativa y cuantitativa de azúcares, minerales y vitaminas. Además, tiene funciones biológicas para el tratamiento y prevención de enfermedades gracias a sus propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y de modulación de la respuesta inmune (García et al., 2022).

Las propiedades nutricionales que tiene la miel de *Apis mellifera* L. (Pereyra, 1993; Ranneh et al., 2021), la hacen atractiva a nivel comercial, con alta rotación, muy buenos precios y creciente interés en su consumo. Esta situación se ha visto perturbada por la existencia de miel artificial en el mercado nacional del Perú con precios menores que disuaden al consumo de la miel auténtica. Adicionalmente, el consumo de mieles adulteradas puede afectar la salud humana, tomando como base estudios en ratas que demostraron incremento de peso, función renal y hepática alterada, entre otras disfunciones (Samat et al. 2018).

El método de autenticación de la miel de abejas por técnicas de evaluación de la actividad de diastasa, sustancia siempre presente en la miel, no podría dar un aporte totalmente veraz, por el hecho que muchas mieles cristalizadas, para su licuación, pasan por el proceso de calentamiento a temperaturas superiores a 60 °C. Investigaciones demuestran que la actividad de la diastasa resulta afectada al calentar la miel, inclusive a temperaturas que no sobrepasan los 60°C por 30 minutos en hornos microondas a 100 W (Bucio & Martínez 2019); en este mismo sentido, evaluaciones de la miel de abejas expuestas a temperaturas de 50 a 80°C encuentran una correlación directa con la disminución de la actividad de diastasa (Kędzierska-Matysek et al., 2016).

Recientemente, se analizaron mieles auténticas con el enfoque principal de determinar el origen botánico a través del análisis de excitation-emissionmatrix (EEM) (Ropciuc et al., 2023), mediante cromatografía de gases "headspace" acoplada a espectroscopía de masas (HS_GC_MS) (Castell et al., 2023), evaluación de perfiles de minerales determinados por espectrometría ICP-MS (Pavlin et al., 2023) y pruebas moleculares como PCR en tiempo real (Lopes et al., 2023).

Por otra parte, la presencia de granos de polen en la miel es una característica de la autenticidad de la miel que permite conocer el origen botánico y geográfico, mientras que la ausencia del mismo sería indicio de fraude en la comercialización de la miel (Escribano & Cáceres, 2018).

Se han reportado técnicas para diferenciar la miel natural y adulterada mediante espectroscopía infrarroja FTIR (Rios, 2010); también, para identificar espectros diferenciables entre mieles auténticas y adulteradas con espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR) (Guelpa et al., 2017; Li et al., 2017), así como, la combinación de espectroscopía UV visible y de infrarrojo cercano (VIS-NIR) (Raypah et al., 2022). Empleando espectroscopía UV-Vis se logró autenticar miel entre mieles adulteradas, habiéndose registrado su espectro en la región 320-800 nm (de Souza et al., 2021).



Zhang & Abdulla (2022) refieren que la espectroscopía infrarroja ha sido ampliamente aplicada para detección y cuantificación en mieles adulteradas, asumiendo que los valores de absorbancia a ciertas regiones espectrales pueden revelar el contenido del adulterante debido a las diferencias de componentes químicos entre miel pura y jarabes. En todos los casos, métodos de autenticación, aun siendo de aplicación sencilla, requieren de estudios de un laboratorio con equipos de alto costo y la participación de profesionales especializados.

Por otro lado, la espectroscopía UV–VIS como técnica analítica de muchas aplicaciones viene siendo empleada por más de tres décadas en análisis cualitativos de identificación de sustancias y mezcla de sustancias, y cuantitativos; muestra simplicidad, versatilidad, velocidad, precisión y rentabilidad. En la práctica, el espectro UV-VIS de la mayoría de las moléculas consiste en curvas ensanchadas como efecto de la absorción de radiación en un rango de longitud de onda (Castellanos et al., 2018).

En el marco de lo antes referido, es necesario contar con laboratorios y pruebas de autenticidad de la miel que sean sencillas, rápidas, con alto grado de seguridad, confiabilidad, validez y bajo costo, además de que sean repetibles. Por tanto, es importante el desarrollo de pruebas que, mediante indicadores, demuestren la autenticidad de la miel en el mercado.

En este trabajo se propone validar la sencilla "Prueba del Té" para la autenticación de la miel de abejas, a través de un indicador visual consistente en la formación de un sedimento que ocurre en una infusión de té luego del agregado de la miel.

Materiales y Métodos

Evaluación de las características sensoriales

Se ha utilizado 16 muestras de mieles obtenidas en apiarios y centros comerciales de Trujillo, Perú, en julio del 2022 y enero del 2023.

Las características sensoriales de las mieles como: la textura, el olor y el sabor, se evalúan a través de los órganos de los sentidos percibidos por un equipo de personas (Marcazzan et al., 2018). En la presente investigación, tales características, en las muestras de miel, fueron realizadas por el profesor de la Cátedra de Apicultura, Departamento de Entomología, Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), con más de 25 años de experiencia en apicultura, y alto nivel en conocimientos sobre las características de la miel de abejas (Martos, 2023).

- **Muestra 1**, miel cristalizada, color ámbar claro, presenta cristales muy pequeños, no aromática, sabor dulce ligero o suave, acidez suave.
- **Muestra 2**, miel líquida, ámbar claro, ligeramente densa, aroma suave, dulce ligeramente suave, acidez ligera.
- **Muestra 3**, miel líquida, color ámbar oscuro, ligera densidad, aroma ligeramente intenso, dulce suave y acidez ligera.
- **Muestra 4**, miel cristalizada, color amarillo claro, ligeramente aromática, dulce suave y acidez ligera.
- **Muestra 5**, miel cristalizada, amarillo claro, ligeramente aromática, sabor dulce fuerte con ligero amargor.
- **Muestra 6**, miel cristalizada, color ámbar oscuro, ligeramente aromática, sabor dulce suave y ácido intenso



Muestra 7, miel cristalizada, color amarillo claro, ligeramente aromático, dulce y acidez.

Muestra 8, líquida, color ámbar ligeramente oscuro, densidad y aroma bajos, dulzor intenso y ligeramente ácida.

Muestra 9,miel líquida, color ámbar claro, ligeramente aromática, dulzor suave y ligeramente ácida.

Muestra 10, miel líquida, color claro amarillenta, ligeramente densa y aromática, dulzor intenso, acidez de moderada a alta.

Muestra 11, miel líquida, color amarillo claro, aromático ligeramente intenso, sabor dulce ligeramente ácida.

Muestra 12, miel cristalizada. Color ámbar oscuro, aroma intenso, sabor dulce y acidez intensa.

Muestra 13, miel líquida, color amarillo claro, ligeramente densa, aroma intenso, acidez ligera.

Muestra 14, miel líquida, color amarillo intenso, aroma intenso, sabor dulce y acidez moderadamente alta.

Muestra 15, miel líquida, color amarillo intenso, densidad moderada, aroma intenso, dulzor alto y muy ácida.

Muestra 16, miel líquida, color amarillo claro, densidad moderada, aroma suave, sabor dulce ligeramente amargo y ácida.

Análisis polínico

Para procesar las muestras se colocaron 5 g de miel de cada una de las muestras de miel objeto de estudio en tubos de ensayo de material plástico con capacidad de 15 ml. Se agregó agua destilada hasta 14 ml con pipetas Pasteur de plástico desechables, se agitó hasta lograr la completa disolución de la miel y se sometió a centrifugado de 5000 rpm por 20 minutos con la finalidad de lograr la sedimentación de los granos de polen en el fondo del tubo. De inmediato se descartó el sobrenadante y con una pipeta Pasteur de plástico se tomó una alícuota del sedimento, el cual fue colocado sobre una lámina portaobjetos, se dejó secar al ambiente, se añadió una gota de gelatina de glicerina líquida sobre la lámina cubreobjetos y se colocó sobre la muestra evitando burbujas de aire (Von der Ohe et al., 2004). El preparado fue observado al microscopio compuesto a 400X (Marca OLYMPUS, modelo BX 51). Se registró la presencia o ausencia de granos de polen, luego de la revisión de la muestra en la lámina portaobjeto, por el método del transecto al azar (Castellanos-Potenciano et al., 2012). A criterio de los autores de la presente investigación, se contó el número de polen presente en 5 campos microscópicos de las muestras que se evidenciaron la presencia de granos de polen, para uso únicamente como referencia de su presencia y sin considerar el tipo de polen de origen botánico o cantidad de polen. Se consideró una miel auténtica a aquella miel con presencia de polen. Se realizaron tres repeticiones.

Técnica de observación directa: "Prueba del Té"

Para la técnica denominada "Prueba del Té" se preparó una infusión de té para lo cual se colocó 14 g de té, bajo la presentación en filtrante, en un litro de agua destilada a temperatura de 100°C. Se dejó en reposo hasta alcanzar la temperatura ambiente. Luego se agregó 10 g de miel de cada una de las muestras en estudio en 40 ml de infusión de té contenida en tubos de ensayo de material plástico con capacidad de 50 ml. Se agitó el contenido hasta lograr una disolución completa de la miel, obteniéndose así una mezcla homogénea. Los tubos y su contenido se dejaron en reposo y se hizo la lectura de presencia o ausencia de sedimento a las 24 horas. Luego, el contenido de los tubos en los cuales se observó el sedimento fue sometido a un proceso de centrifugación de 2000



rpm por 10 minutos (Centrífuga, marca DAMON, modelo HN-S) con la finalidad de retirar el sobrenadante y registrar el peso del sedimento (Balanza analítica, marca OHAUS, modelo PA214). Se consideró una miel auténtica a aquella miel que generó un sedimento. Se realizaron tres repeticiones.

Se realizó este ensayo con muestras de miel a temperatura ambiente y precalentadas a 90°C.

Análisis complementario de la validez de la "Prueba del Té"

Estimación de la linealidad de la cantidad de sedimento en función de la cantidad de miel utilizada

Se realizó la "Prueba del Té" con 2, 4, 6, 8, 10 y 12 g de miel auténtica, considerando el control negativo (infusión de té sin miel). Se realizaron tres réplicas. El procedimiento seguido fue el mismo descrito anteriormente en la "Prueba del Té". Se registraron los pesos del sedimento en cada tratamiento.

La linealidad fue determinada con las pruebas estadísticas de análisis de regresión (β), de correlación (r) y coeficiente de determinación (R^2) de la cantidad de sedimento en función a la cantidad de miel utilizada, con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y el grado de precisión, por el error estándar.

La técnica de espectroscopía UV visible

En tubos de ensayo de material plástico de 50 ml, se colocó 1ml de miel de cada una de las muestras de miel objeto de estudio y 20 ml de agua destilada. Se agitó por breves minutos para lograr una mezcla homogénea. Con una micropipeta Eppendorf se tomó 5 µl de la mezcla y se colocó en el dispositivo de lectura del espectrofotómetro Nano Drop (Thermo Fisher Scientific modelo One C) a fin de obtener el registro de la curva de absorbancia en el rango de 190 a 850 nm (de Souza et al., 2021). Se consideró miel auténtica a aquella cuya curva de absorbancia siguió la misma tendencia de la muestra de miel auténtica utilizada como patrón o referencia. La miel no auténtica muestra una curva de absorbancia diferente. Se realizaron tres repeticiones.

Análisis estadísticos

Se realizó la comparación de promedios del peso (g) de sedimento obtenido en las muestras analizadas por la "Prueba del Té", mediante el análisis de varianza y Prueba Tukey. En la prueba de linealidad de la cantidad de sedimento en función de la variación del peso de miel, se resolvió con las pruebas estadísticas de correlación y regresión lineal. De los valores registrados por espectroscopía UV visible, se consideró las longitudes de onda 190 y 270 nm, para la comparación estadística mediante el análisis de varianza y prueba Tukey. Para todas las pruebas estadísticas se utilizó el nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Los datos fueron procesados con software Origin Pro.

Resultados

Características sensoriales de las mieles

Las muestras de miel utilizadas en el estudio presentaron características sensoriales de las mieles auténticas como: sabor, aroma, densidad, cristalización, que sugieren estar frente a mieles auténticas. Se identificaron 9 muestras liquidas y 6 cristalizadas. La mayoría de las mieles son de color amarillo claro (7 muestras), luego, ámbar ocurso con 4 muestras, ámbar claro con 3 mieles y



amarillo intenso fueron 2 mieles. En mieles resalta el sabor dulce y ácido, así como también, el aroma suave o intenso y la densidad de grado moderado a alto.

Análisis polínico de mieles

En un total de 11 muestras se identificó presencia de sedimento polínico (1 al 9, 13 y 16) en cantidades variables por campo, con valores promedios entre 2,0 a 45,0. En las muestras con ausencia de polen, se realizó una revisión exhaustiva de todos los campos del preparado (<u>Tabla 1</u>).

Tabla 1. Presencia o ausencia de sedimento, cantidad de sedimento y autenticidad o no en muestras de miel.

Muestras de miel	Presencia (+) o ausencia (-) de sedimento	Cantidad de sedimento (g)	Autenticidad No autenticidad	
Muestra 1	+	2.77	Autentica	
Muestra 2	+	2.96	Autentica	
Muestra 3	+	3.31	Autentica	
Muestra 4	+	1.72	Autentica	
Muestra 5	+	1.72	Autentica	
Muestra 6	+	2.95	Autentica	
Muestra 7	+	0.99	Autentica	
Muestra 8	+	3.02	Autentica	
Muestra 9	+	1.32	Autentica	
Muestra 10	-	0	No autentica	
Muestra 11	-	0	No autentica	
Muestra 12	-	0	No autentica	
Muestra 13	-	0	No autentica	
Muestra 14	-	0	No autentica	
Muestra 15	-	0	No autentica	
Muestra 16*	(Sedimento incipiente)	0.24	No autentica	

La "Prueba del Té"

En la <u>tabla 2</u>, se muestran las 16 mieles evaluadas; nueve muestras dieron positivo a la presencia de sedimento (<u>Fig. 1</u>) en la "Prueba del Té", en tanto que seis muestras no presentaron sedimento. Una muestra arrojó un sedimento incipiente, lo cual debe considerarse como sedimento despreciable. Los valores de sedimento en gramos en las nueve muestras antes referidas variaron entre 0,99 y 3,31, valores que corresponden a sedimentos evidentes o notorios; en la muestra con sedimento incipiente, el valor sólo alcanzó 0,24 g (cantidad que difiere con las muestras 1-9, p<0.01).



Tabla 2. Presencia o ausencia de microgránulos de polen, número promedio de microgránulos de polen por campo, y autenticidad o no autenticidad en muestras de miel.

Muestras de miel	Presencia (+) o ausencia (-) de microgránulos de polen	Número promedio de microgránulos de polen por campo	Autenticidad/No autenticidad
Muestra 1	+	7,80	Autentica
Muestra 2	+	10,00	Autentica
Muestra 3	+	42,60	Autentica
Muestra 4	+	2,00	Autentica
Muestra 5	+	12,80	Autentica
Muestra 6	+	6,00	Autentica
Muestra 7	+	8,40	Autentica
Muestra 8	+	3,00	Autentica
Muestra 9	+	10,70	Autentica
Muestra 10	-	0,00	No autentica
Muestra 11	-	0,00	No autentica
Muestra 12	-	0,00	No autentica
Muestra 13	+	45,00	Autentica
Muestra 14	-	0,00	No autentica
Muestra 15	-	0,00	No autentica
Muestra 16*	+	6,70	Autentica

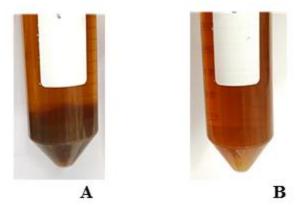


Figura 1. Presencia de sedimento (A), ausencia de sedimento (B)

En la Figura 2 A se expone la relación de la cantidad de sedimento de acuerdo a la cantidad de miel de abejas agregada en la "Prueba del Té". Así mismo, se encontró linealidad del peso de miel y el peso del sedimento, con un coeficiente de regresión altamente significativo (p<0.01), (coeficiente de regresión $\beta = 0.37 \pm 0.02$, coeficiente de correlación r = 0.99, $R^2 = 0.98$) (Fig. 2 B)



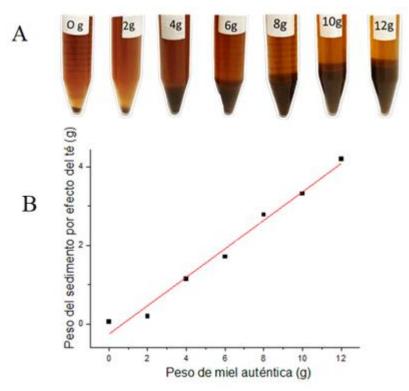


Figura 2 A. Incremento del sedimento de la miel de abejas auténtica de acuerdo a la cantidad de miel agregada en el té (0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 g). B. Regresión lineal del peso del sedimento en la prueba del té en función de la cantidad de miel agregada (g). Coeficiente de regresión (β = 0.37), coeficiente de correlación (r = 0.99), coeficiente de determinación (R²=0.98).

La técnica de espectroscopía UV visible

Mediante esta técnica se determinó la curva de absorbancia de una miel patrón, la cual fue tomada directamente de los panales de una colmena saludable de un apiario conducido con un manejo técnico profesional, sin aplicación de alimentos suplementarios. También se obtuvieron las respectivas curvas para todas las muestras de mieles en estudio.

Curva de absorbancia de la muestra de miel auténtica o miel patrón

La técnica de espectroscopia UV visible permitió determinar con precisión la curva de absorbancia de la muestra de miel patrón. En esta curva, se observa un notable pico agudo entre 190 a 200 nm de lomgitud de onda, seguido de un descenso abrupto. Posteriormente la curva muestra una pequeña onda con valores de absorbancia inferiores a 5 nm, para finalmente estabilizarse en una línea casi plana a partir de los 300 nm (Fig.3).

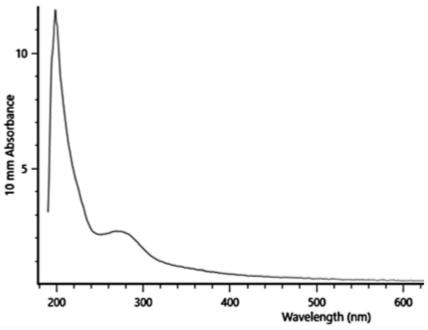


Figura 3. Curva de absorvancia de la muestra de miel patrón

Curva de absorbancia de muestras de miel que tienen la misma tendencia de la miel auténtica patrón

Se presentan las curvas de absorbancia de las muestras de miel 1 a 9 (<u>Fig.4</u>), las cuales muestran una tendencia similar a la obtenida para la miel auténtica patrón. Tales curvas fueron calificadas como de alta similitud a la muestra de miel patrón.



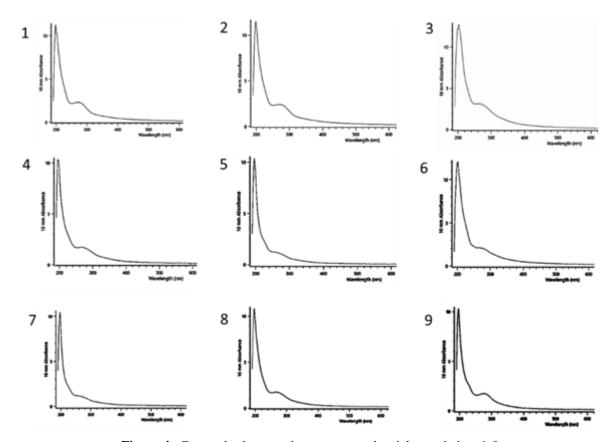


Figura 4. Curvas de absorvancia en muestras de mieles auténticas 1-9

Curva de absorbancia de muestras de miel con una tendencia diferente a la miel auténtica patrón

Por otra parte, las curvas de absorbancia de las muestras de miel 10 a 16 (Fig.5), presentaron una tendencia totalmente diferente a la obtenida para la miel auténtica patrón, razón por la cual, fueron calificadas como de alta discrepancia respecto a la muestra patrón; consecuentemente, todas estas muestras corresponden a mieles no auténticas o falsas.



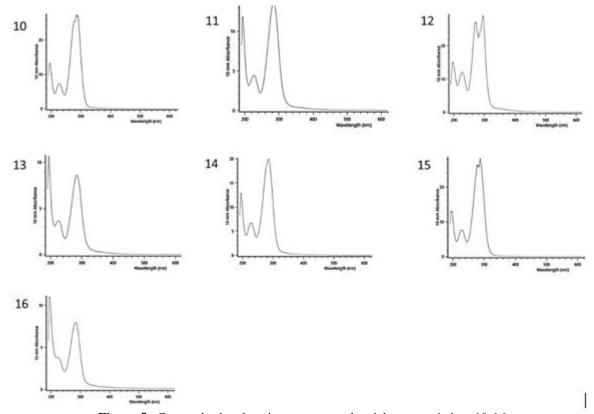


Figura 5. Curvas de absorbancia en muestras de mieles no auténticas 10-16

La comparación estadística de los registros de absorbancia a 190 nm muestra diferencias significativas (p<0,01) entre las mieles 1 a 9 y las mieles 10 a 16, con rangos de absorbancia de 1,89 a 4.4 y de 5,95 a 9,33, respectivamente. De manera similar, se observaron diferencias significativas (p<0,01) a 270 nm, con rangos de absorbancia de 1,11 a– 3,13 en las mieles 1 al 9 y de 5,81 a 26,79 en las mieles 10 al 16.

Relación entre la presencia de sedimento y la presencia de granos de polen con la curva de absorbancia

En la <u>Tabla 3</u> se aprecia que existe relación entre la presencia de sedimento y la curva de absorbancia similar a la de la miel auténtica, con lo cual, en consecuencia, se confirma que las mieles que generan sedimento son auténticas; mientras que la presencia del polen no es determinante para calificar a una miel como auténtica. En este sentido, las muestras 13 y 16, a pesar de tener granos de polen, no corresponden a miel auténtica porque la curva de absorbancia no sigue la tendencia de la correspondiente curva de la miel auténtica patrón que se usó en el experimento. La presencia de polen, si bien es cierto, está presente en todas las mieles auténticas, podría estar presente en una miel no auténtica por agregado intencional por la mano del hombre con el fin de engañar o confundir al consumidor.



Tabla 3. Relación entre la presencia del sedimento, presencia de microgránulos de polen y la curva de absorbancia con la autenticidad o no de la miel.

Muestras de miel	Presencia (+) o ausencia (-) de sedimento	Presencia (+) o ausencia (-) de microgránulos de polen	Curva de absorbancia similar (+) o curva de absorbancia diferente (-) a la miel auténtica	Autenticidad No autenticidad
Muestra 1	+	+	+	Autentica
Muestra 2	+	+	+	Autentica
Muestra 3	+	+	+	Autentica
Muestra 4	+	+	+	Autentica
Muestra 5	+	+	+	Autentica
Muestra 6	+	+	+	Autentica
Muestra 7	+	+	+	Autentica
Muestra 8	+	+	+	Autentica
Muestra 9	+	+	+	Autentica
Muestra 10	-	-	-	No autentica
Muestra 11	-	-	-	No autentica
Muestra 12	-	-	-	No autentica
Muestra 13	-	+	-	No autentica
Muestra 14	-	-	-	No autentica
Muestra 15	-	-	-	No autentica
Muestra 16*	-	+	-	No autentica

Cualquier manipulación en la autenticidad de la miel de abeja, queda despejado eficazmente mediante la técnica de espectroscopía UV Visible.

En lo que corresponde a la "Prueba del Té", la formación de un sedimento demuestra claramente que la miel es auténtica, pues mantiene una relación con la técnica de espectroscopía UV visible en el sentido que las mieles que generan sedimento tienen también la curva de absorbancia con tendencia de alta similitud a la obtenida para la miel auténtica patrón.

Discusión

Partiendo de la premisa de que el polen es un componente natural de la miel de abejas (<u>Escribano</u> & <u>Cáceres</u>, <u>2018</u>), y que en toda miel se presentan, variando en cantidad y tipo (<u>Martos</u>, <u>2023</u>), la presencia de granos de polen indicaría que las muestras son auténticas, calificación sugerida por los investigadores de la presente publicación; en tanto que, las muestras sin presencia de granos de polen serían mieles no auténticas. Siendo suficiente la prueba cualitativa, presencia o ausencia de polen en la miel.

La técnica melisopalinológica, que debiera ser una técnica precisa para establecer la autenticidad de la miel, se vería empañada por mala acción de parte del hombre con el agregado a propósito de polen, a fin de disfrazar una miel no auténtica en auténtica, sin embargo, el aporte significativo del análisis de polen en mieles auténticas radica en la determinación del origen botánico de zonas geográficas (Barth et al., 2009; Tulu et al., 2023; Song et al., 2012); de manera similar, la validez de las pruebas de DNA de los granos de polen en la miel están orientadas a la autenticidad de la miel en relación a las especies botánicas visitadas por las abejas según zona geográfica (Wirta et al., 2021).

La "Prueba del Té" es una prueba cualitativa que pone de manifiesto reacciones que ocurrirían entre los compuestos químicos de la miel y las sustancias no solubles en suspensión presentes en una infusión de té. La técnica se sustenta en una observación visual consistente en la ocurrencia de un sedimento, usualmente abundante, de sustancias no solubles, luego de disolver la miel en la



infusión de té, la cual se deposita en el fondo del recipiente a manera de un sedimento o concho. En mieles artificiales no ocurre tal fenómeno.

La sedimentación que se verifica en la "Prueba del Té", ocurre en mieles frescas o antiguas, fluidas o cristalizadas, inclusive en mieles calentadas a temperatura de 90 °C. Se requieren investigaciones sobre los complejos que forman los compuestos del té y de la miel de abejas para que ocurra la sedimentación. Se conoce la complejidad de los compuestos de la miel que a la fecha no están totalmente analizadas, siendo claro la presencia de glucosa y fructosa, polifenoles, flavonoides, ácidos orgánicos, vitaminas, proteínas, actividad de la diastasa no menor de 8 unidades de diastasa (Machado et al., 2017; Chua et al., 2015).

La autenticidad de la miel de manera precisa se puede determinar mediante la técnica de espectroscopía UV visible a través de la cual se puede obtener una curva de absorbancia que tiene una tendencia específica que solamente está en las mieles auténticas y que claramente se diferencia de la respectiva curva de las mieles no auténticas o adulteradas. La espectroscopia de absorción molecular en la región ultravioleta- visible (UV-Vis) proporciona un espectro que aporta información química y estructural de muestras de alimentos (Darra et al., 2017), así como en pruebas de autentificación de miel (de Souza et al., 2021).

En lo que corresponde a la "Prueba del Té", la formación de un sedimento demuestra claramente que la miel es auténtica, pues mantiene una relación con la técnica de espectroscopía UV visible en el sentido que las mieles que generan sedimento tienen también la curva de absorbancia con tendencia de alta similitud a la obtenida para la miel auténtica patrón.

Por lo expuesto, los autores proponen una sencilla determinación como la "Prueba del Té", que, a través de un indicador visual consistente en la formación de un sedimento que ocurre en una infusión de té luego del agregado de la miel, determinaría la autenticidad de la miel.

El sedimento que ocurre en la "Prueba del Té", es probable que obedece a una serie de reacciones químicas que ocurre entre los componentes de la miel y todas las sustancias no solubles presentes en la infusión de té, motivo de futuras investigaciones. El sedimento evidenciado en la "Prueba del Té" constituye un indicador para la determinación de la autenticidad de la miel de manera fácil e inmediata, pues sus resultados pueden observarse en breve tiempo menor a una hora. Además, esta prueba es sencilla pues no requiere de equipos ni insumos de alto costo, así como también puede ser realizada por cualquier persona sin exigencia de mayores conocimientos en técnicas y la química de la miel. Basta tener un vaso con una infusión de té concentrada a la cual se le agrega una cucharada de miel para, después de menos de una hora, observar la presencia notoria de un sedimento cuando se trata de miel auténtica, y con un costo estimado a 0,53 U.S. \$, valor altamente contrastante con el costo de un análisis por espectroscopía UV visible, servicio que tampoco se oferta corrientemente en el mercado local.

Conclusiones

La presencia de sedimento en las muestras ensayadas indica la autenticidad de la miel. La "Prueba del Té", validada a través de la técnica de espectroscopía UV visible, permite diferenciar la miel de abejas natural y adulterada, habiendo demostrado la concordancia con los resultados de espectroscopía UV visible en las mieles de Perú, evaluadas. Además, el peso del sedimento aumenta en relación directa a la cantidad de miel en la infusión de té. La "Prueba del Té" permitirá, de manera rápida y eficaz, identificar, a nivel de consumidor, la autenticidad de la miel de abejas presente en el mercado local.



Agradecimientos

Los autores agradecen por el apoyo técnico en el desarrollo de la presente investigación a los Biólogos Luz Argomedo Anticona, Linda Sánchez Tuesta, Monica Arqueros Avalos, Carlos Quijano Jara y David Salirrosas de la Universidad Nacional de Trujillo.

Declaración de Autoría (CRedit)

AMT: Investigación, análisis formal, metodología, supervisión, redacción, revisión y edición.

ZAP: Investigación, metodología, escritura, redacción y edición.

Referencias Bibliográficas

BARTH, O.M.; MUNHOZ, M.C. y LUZ, C.F.P. (2009) Botanical origin of *Apis* pollen loads using colour, weight and pollen morphology data. Acta Alimentaria 38(1), 133-139. https://doi.org/10.1556/aalim.2008.0026

BUCIO, V.C.M. y MARTINEZ, J.O.A. (2019) Utilización de microondas para descristalizar miel producida por las abejas domésticas (*Apis mellifera*). Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos 4, 933-940. http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/10/133.pdf

CASTELL A.; ARROYO-MANZANARES, N.; GUERRERO-NUÑEZ, Y.; CAMPILLO, N. y VIÑAS, P. (2023) Headspace with GY.; as Chromatography-Mass Spectrometry for the Use of Volatile Organic Compound Profile in Botanical Origin Authentication of Honey. Molecules, 28(11), 4297. https://doi.org/10.3390/molecules28114297

CASTELLANOS I.; VELANDIA, J.; GONZÁLES, M.; VARELA, D. y RAMÍREZ, E. (2018) Aplicaciones y generalidades de un espectrofotómetro UV-VIS UV-1800 de Shimadzu. 1ª. edición, Bogotá: Universidad EAN, https://editorial.universidadean.edu.co/media/acceso-abierto/aplicaciones-y-generalidades-de-un-espectrofotometro-uv-vis-uv-1800-ean.pdf

CASTELLANOS-POTENCIANO, B. P.; RAMÍREZ-ARRIAGA, E. y ZALDIVAR-CRUZ, J. M. (2012) Análisis del contenido polínico de mieles producidas por *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: apidae) en el estado de Tabasco, México. Acta Zool. Mex 28 (1), 13-36. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372012000100002

CHUA L.S., LEE, J.Y. y CHAN, G.F. (2015) Characterization of the Proteins in Honey. Analytical Letters, 48(4), 697-709. https://doi.org/10.1080/00032719.2014.952374

DARRA, N.; RAJHA, H.N.; SALEH, F.; AL-OWEINI, R.; MAROUN, R.G. y LOUKA, N. (2017) Food fraud detection in commercial pomegranate molasses syrups by UV–VIS spectroscopy, ATR-FTIR spectroscopy and HPLC methods. Food Control, 78, 132–137. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.043

DE SOUZA, R. R.; DE SOUZA, F.D.D. y GONCALVES, D.D.P.H. (2021) Honey authentication in terms of its adulteration with sugar syrups using UV-Vis spectroscopy and one-class classifiers. Food Chemistry, 365, 130467.https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130467

ESCRIBANO, S. y CÁCERES. J. (2018) El polen, elemento clave de la miel. Vida Apícola, 12(6): 12-23. https://www.researchgate.net/publication/332672058_El_Polen_Elemento_Clave_de_la_Miel

GARCÍA, M.; ARMENTEROS, E.; ESCOBAR, M.C.; GARCÍA, J.; MÉNDEZ, J. y G. RAMOS, G. (2022) Composición química de la miel de abeja y su relación con los beneficios a la salud. Rev. Med. Electrón, 44(1): 1-13. https://revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/4397/pdf



GUELPA A.; MARINI, F.; DU PLESSIS, A.; SLABBERT, R. y MANLEY, M. (2017) Verification of authenticity and fraud detection in South African honey using NIR spectroscopy. Food Control. 73, 1388–1396. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.11.002

KĘDZIERSKA-MATYSEK M.; FLOREK, M.; WOLANCIUK, A.; SKAŁECKI, P. y LITWIŃCZUK, A. (2016) Characterization of viscosity, colour, 5-hydroxymethylfurfural content and diastase activity in raw rape honey (*Brassica napus*) at different temperatures. J Food Sci Technol, 53(4), 2092-2098. https://doi.org/10.1007/s13197-016-2194-z

LI S.; ZHANG, X.; SHAN, Y.; SU, D.; MA, R.Q. y WEN-LI, D.J. (2017) Qualitative and quantitative detection of honey adulterated with high-fructose corn syrup and maltose syrup by using near-infrared spectroscopy. Food Chemistry, 218, 231-236. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.105

LOPES A. R.; MOURA, M. V.; GRAZINA, L.; COSTA, J.; AMARAL, J.S.; PINTO M.A. y MAFRA, I. (2023) Authentication of incense (*Pittosporum undulatum* Vent.) honey from the Azores (Mel dos Açores) by a novel real-time PCR approach. Food Chemistry, 411, 135492. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135492

MACHADO D-M, A. A.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; BICUDO DE A-M., L.; SANCHO, M.T. y PASCUAL-MATÉ, A. (2017) Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. Journal of Apicultural Research, 57(1), 5–37. https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1338444

MARCAZZAN G. L.; MUCIGNAT-CARETTA, C.; MARCHESE, C.M. y PIANA, M.L. (2018) A review of methods for honey sensory analysis. Journal of Apicultural Research, 57(1), 75-87, https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1357940

MARTOS T. A. (2023). Apicultura General y Aplicada. Ed. QyP Impresores s.r.l. Universidad Nacional Agraria La Molina.579 pp.

PAVLIN A.; KOČAR, D.; IMPERL, J.; KOLAR, M.; MAROLT, G. y PETROVA, P. (2023) Honey Origin Authentication via Mineral Profiling Combined with Chemometric Approaches. Foods, 12, 2826. https://doi.org/10.3390/foods12152826

PEREYRA-GONZÁLEZ, A. S. (1993) Estudios sobre Mieles de Abeja, *Apis mellífera*, de Producción Nacional: Evaluaciones de Contenidos de Nitrógeno, Lípidos Totales y sus Composiciones Acídicas y Valores de la Relación Glucosa/Fructosa. [Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires]. Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n2592_PereyraGonzales

RANNEH Y., A. M. AKIM, H.A. HAMID, H. KHAZAAI, A. FADEL, Z.A. ZAKARIA, M. ALBUJJA y M-F.A. BAKAR. 2021. Honey and its nutritional and anti-inflammatory value. BMC Complement Med Ther, 21(1), 30. https://doi.org/10.1186/s12906-020-03170-5

RAYPAH M. E., J. OMAR, MUNCAN, M. ZULKURNAINY N.A.R. ABDUL. 2022. Identification of Stingless Bee Honey Adulteration Using Visible-Near Infrared Spectroscopy Combined with Aquaphotomics. Molecules, 27(7), 2324. https://doi.org/10.3390/molecules27072324

RIOS C. A. 2010. Quimiometría en miel de abeja para la determinación de azúcares y detección de adulteración utilizando espectroscopia infrarroja. [Tesis para obtener el Grado de Maestría en Biotecnología Aplicada. Instituto Politécnico Nacional. México] Disponible en: http://repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/6944

ROPCIUC S.; DRANCA, F.; PAULIUC, D. y OROIAN, M. (2023) Honey authentication and adulteration detection using emission – excitation spectra combined with chemometrics, Spectrochimica. Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 293, 122459 https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.122459



SAMAT S.; ENCHANG, F.K.; RAZAK, A.R.; HUSSEIN, F.N. y WAN, I.W.I. (2018) Adulterated Honey Consumption can Induce Obesity, Increase Blood Glucose Level and Demonstrate Toxicity. SainsMalaysiana, 47(2), 353-365. http://dx.doi.org/10.17576/jsm-2018-4702-18

SONG, X-Y.; YAO, Y-F. y YANG, W-D. (2012) Pollen analysis of natural honeys from the central region of Shanxi, North China. Plos one, 7(11), e49545. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049545

TULU D.; ALEME, M.; MENGISTU, G.; BOGALE, A.; BEZABEH, A. y MENDESIL, E. (2023) Melissopalynological analysis and floral spectra of *Apis mellifera scutellata* Lepeletier bees in different agroecologies of southwest Ethiopia. Helivon, 9(5), e16047. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16047

VON DER OHE, W.; PERSANO ODDO, L.; PIANA, M. L.; MORLOT, M. y MARTIN, P. (2004) Harmonized methods of melissopalynology. Apidologie 35, S18-25. https://doi.org/10.1051/apido:2004050

WIRTA H.; ABREGO, N.; MILLER, K.; ROSLIN, T. y VESTERINEN, E. (2021) DNA traces the origin of honey by identifying plants, bacteria and fungi. Sci. Rep., 11, 4798. https://doi.org/10.1038/s41598-021-84174-0

ZHANG, G. y ABDULLA, W. (2022) On honey authentication and adulterant detection techniques. Food Control, 138, 1-14. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108992

MARTOS TUPES, A., & PRIETO LARA, Z. A. (2024). Determinación sencilla de mieles puras de 'Apis mellifera' L, provenientes del Perú: "prueba del té". *Ciencias Agronómicas*, (44), e042. https://doi.org/10.35305/agro44.e042

Copyright (c) 2024 A. Martos Tupes; Z.A.Prieto Lara



Esta obra está bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0.