

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y
APLICADAS**

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

**DETERMINACIÓN DE LA EXISTENCIA DE ENZIMA
CATALASA EN MIELES MEXICANAS.**

**TESIS PROFESIONAL QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS
CON OPCIÓN TERMINAL EN TECNOLOGÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

PABLO BROCA QUEVEDO.

DIRECTORES:

**Dr. Miguel A. Basurto Pensado.
Dr. Rosenberg J. Romero Domínguez.**

ASESORES:

**Dr. Jesús Escobedo Alatorre.
Dra. Laura Lilia Castro Gómez.
Dr. Antonio Rodríguez Martínez.
Dra. Laura Patricia Álvarez Berber.
Dr. Osvaldo Sánchez Hernández.**

CUERNAVACA, MORELOS.

NOVIEMBRE 2019.

SINODALES:

Dr. Jesús Escobedo Alatorre.

Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas.
Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Dra. Laura Lilia Castro Gómez.

Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas.
Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Dr. Antonio Rodríguez Martínez.

Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas.
Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Dra. Laura Patricia Álvarez Berber.

Centro de Investigaciones Químicas.
Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Dr. Osvaldo Sánchez Hernández.

Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco.
Departamento de Atención a la Salud.

Dr. Rosenberg J. Romero Domínguez.

Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas.
Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Dr. Miguel A. Basurto Pensado.

Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas.
Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Resumen

El presente trabajo está enfocado a la detección de enzima Catalasa en miel elaborada por abejas (*Apis Mellifera*) procedente de diferentes regiones de la República Mexicana, las muestras de miel fueron obtenidas de productores que observan técnicas de buenos hábitos de producción, de acuerdo al protocolo establecido por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA ahora SADER) (SAGARPA-SENASICA, 2010).

Para determinar la existencia de enzima Catalasa en la miel no se cuenta con un método de bajo costo que pueda ser aplicado directamente por los apicultores, un método con las características mencionadas, les permite identificar si la miel producida por sus abejas (*Apis Mellifera*) contiene enzima Catalasa y mejorar el precio de su producto. El método para su aplicación debe contar con un reactivo que permita evidenciar el contenido de Catalasa en la miel.

Las mieles, en su mayoría poli-florales, fueron analizadas para determinar si contienen enzima Catalasa, la importancia de dicha enzima obedece a sus propiedades medicinales por que sintetiza el Peróxido de Hidrógeno (H_2O_2) que se forma como subproducto de algunos micro-organismos patógenos que infectan las heridas (Dee A. Carter, 2016).

En el presente trabajo, las muestras de miel, fueron identificadas mediante el empleo del método COPAM (Broca, 2014) para registro en nuestro banco de información.

Abstract

The present work is focused on the detection of enzyme Catalase in honey made by bees (*Apis Mellifera*) from different regions of the Mexican Republic, honey samples were obtained from producers who observe techniques of good production habits, according to the protocol established by the Ministry of Agriculture, Livestock, Rural Development, Fishery and Feeding (SAGARPA by its acronym in Spanish, currently known as SADER) (SAGARPA-SENASICA, 2010).

To determine the existence of Catalase enzyme in honey, there is no low cost method that can be applied directly by beekeepers. A method, with the mentioned characteristics, allows them to identify if the honey produced by their bees (*Apis Mellifera*) contains Catalase enzyme and improve the price of their product. The method for its application must have a reagent that allows to evidence the content of Catalase in honey.

Honeys, mostly poly-floral, were analysed to determine if they contain Catalase enzyme. The importance of this enzyme is due to its medicinal properties because it synthesizes Hydrogen Peroxide (H_2O_2) that is formed as a by-product of some pathogenic micro-organisms that infect wounds (Dee A. Carter, 2016).

In this work, honey samples were identified by using the COPAM method (Broca, 2014) for registration in our information bank.

Agradecimientos:

Instituto de Investigación en Ciencias Básicas Aplicadas (IICBA).

Centro de Investigación de Ingeniería y Ciencias Aplicadas (CIICAp).

Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM).

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Dr. Miguel A. Basurto Pensado (CIICAp, UAEM).

Dr. Rosenberg J. Romero Domínguez (CIICAp, UAEM).

Dr. Osvaldo Sánchez Hernández. (ISSSTE).

Dra. Laura Patricia Álvarez Berber (CIQ, UAEM).

Dr. Antonio Rodríguez Martínez (CIICAp, UAEM).

IBQ. Adán Broca Quevedo. (Apiarios El Paraíso).

Dr. V. Jesús Broca Quevedo. (UJAT)

Dedicatoria:

יהוה.

A la memoria de mi Padre y mi Madre.

A mi Hijo y a mi Hija.

A Mis Hermanos y Hermanas.

A mis Profesores y Profesoras.

A todas las especies de Abejas.

A las personas que alrededor del mundo han tenido, tienen y tendrán la visión para apreciar, cuidar, estudiar y obtener beneficio de manera justa de los productos que en la colmena elaboran las Abejas y también a todas las personas capaces de comprender los beneficios que éstos increíbles seres proporcionan con su trabajo al planeta.



IMAGEN 1.- Apiario “El Paraíso” 1975.

Contenido

Abstract.....	vi
Agradecimientos:.....	vii
Dedicatoria:	viii
Índice de Imágenes:	xii
Índice de Tablas:	xiii
Índice de Gráficas:	xvi
CAPÍTULO I.	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.2 Determinación de la calidad de la miel	3
1.3 Hipótesis	5
1.4 Objetivos.....	6
Objetivo General:	6
Objetivos Particulares:	6
CAPÍTULO 2.	7
2.1 Contenido enzimático de la miel.	7
2.2 Clasificación general de las enzimas:	9
2.3 Importancia de la Catalasa en la salud animal y humana.	13
2.4 Comparación económica de métodos existentes.....	20
CAPÍTULO 3. Metodología.....	21
3.1 Investigación de la Metodología para la Determinación de Enzima Catalasa en Miel de Abejas Europeas (Apis Mellifera) producida por Abejas Mexicanas.....	21

3.2 Investigación de Métodos Aplicables a la detección de Enzima Catalasa en Miel de abejas europeas (Apis Mellifera)	21
3.3 Detección de Enzima Catalasa (CAT) en miel producida en México por abejas europeas Apis Mellifera.	24
3.5 Obtención de las muestras de miel de abeja Apis Mellifera.....	29
Capítulo 4.....	34
4.1.- Resultados de los análisis para detección de enzima Catalasa en miel de abejas Apis mellifera.....	34
4.2.- Los espectros electromagnéticos obtenidos para las muestras de miel “Catalasa +” (Catalasa positiva) mediante el “COPAM”	41
4.3 Determinación De Enzima Catalasa	107
Capítulo 5. Variables que conducen a la identificación de mieles con Catalasa.	121
5.1 Datos obtenidos del estudio por la detección de Enzima Catalasa en miel de abejas europeas Apis Mellifera.....	121
CONCLUSIONES.....	132
TRABAJOS A FUTURO	134
BIBLIOGRAFÍA:.....	137
Anexo A: Equipo y material para determinar la densidad específica, humedad, azúcares totales, sólidos, pH:	144
Anexo B: Equipo y material empleado para la detección y cuantificación de Catalasa:	145
Anexo C: Equipo y material para caracterización óptica de miel:.....	146

Anexo D: Material, Equipo y modo de empleo para medición de Hidrometilfurfural en Miel de Abejas europeas Apis Mellifera:.....	147
Anexo E: Datos De La Fuente: Lámpara Balanceada De Deuterio-Tungsteno, De 210-1700 Nm, 1000 Hrs., Modelo Dh-2000-Bal, Marca Micropack (Ocean Optics).....	151
Anexo F: La Radiación Electromagnética	152
Anexo G: Hong Kong: Descubren irregularidades en algunas marcas de miel.....	154
GLOSARIO	156
GLOSARIO DE TÉRMINOS:	156

Índice de Imágenes:

IMAGEN 1.- Apiario “El Paraíso” 1975.	viii
IMAGEN 2.- Síntesis de las etapas de investigación realizadas en el presente trabajo para detectar enzima Catalasa (CAT) en miel de Abejas europeas Apis Mellifera.	26
IMAGEN 3.- Diagrama de flujo para la Caracterización Óptica de las muestras de Miel.	32
IMAGEN 4.- Arreglo experimental del equipo a emplear para obtener los espectros de las muestras de miel “Catalasa +”. ...	33
IMAGEN 5.- Primera evidencia de la reacción de H_2O_2 por la acción de la Catalasa presente en miel de abejas Apis Mellifera.....	108
IMAGEN 6.- Vista superior del arreglo experimental para determinar el volumen de O_2 por la reacción del Peróxido de Hidrogeno ($H_2 O_2$) ante Catalasa presente en la miel de abejas Apis Mellifera.....	111
IMAGEN 7.- Matraces Kitasato con los tres tipos de miel al frente la miel de Manuka, en medio la muestra de miel de Cítrico y al fondo la miel de Mangle (M-II).....	112
IMAGEN 8.- Muestras de miel con el Peróxido de Hidrógeno adicionado.....	112
IMAGEN 9.- Reacción en las muestras de miel de Mangle (M-II) (en primer plano), Cítrico (en el medio) y Manuka (al fondo)..	113
IMAGEN 10.- Comparativo del desplazamiento de los meniscos generados por la acción del oxígeno liberado por efecto de la reacción Catalasa- Peróxido de Hidrógeno, sobre el volumen de agua contenida en los tubos “U” del arreglo.	113

Índice de Tablas:

TABLA 1.- CLASIFICACIÓN GENERAL DE LAS ENZIMAS. (KEITH TIPTON, 2000). (Keith Tipton, 2000)	10
Tabla 2.- Datos sobre las principales enzimas existentes en la miel de abejas europeas Apis Mellifera (White, 1979), (Crane, 1990).....	11
Tabla 3.- Muestran diez estudios de profilaxis antimicrobiana con aplicación de miel de abejas Apis Mallifera.	14
tabla 4.- métodos para detección de enzimas que pueden aplicar para determinar la existencia de la catalasa.....	21
Tabla 5.- Parámetros de calidad de la miel indicados por la norma mexicana NMX-F-036-981.	27
Tabla 6.- Resultados de los estudios practicados al primer grupo de muestras de miel obtenidas en los estados de Sinaloa y Chiapas en el año 2014.....	34
Tabla 7.- Resultados de los estudios practicados al tercer grupo de muestras de miel obtenidas directamente de productores del estado de Morelos en el año 2015.	35
Tabla 8.- Resultados de los estudios practicados al tercer grupo de muestras de miel obtenidas en el XXIV Congreso Internacional de Actualización Apícola celebrado en la Ciudad de Morelia, Michoacán en el año 2017.	36
Tabla 9.- datos de los análisis realizados a las muestras de miel de apis mellifera, obtenidas en el xxv congreso internacional de actualización apícola, celebrado en la ciudad de querétaro, en el año 2018.	38
Tabla 10.- Datos de las 11 muestras de miel obtenidas en el XXVI Congreso Internacional de Actualización Apícola, celebrado en Cd. Juárez, Chihuahua.....	39

Tabla 11.- Disminución de peso en pruebas de miel por pérdida de Oxígeno durante la síntesis Catalasa- Peróxido de Hidrógeno.	109
Tabla 12.- Datos de la producción de O ₂ por la acción de la Catalasa de la miel sobre el H ₂ O ₂ , en miel de Manuka.....	114
Tabla 13.- Datos de producción de O ₂ por la acción de la Catalasa de la miel sobre el H ₂ O ₂ , en miel de Mangle M2-SINA.	114
Tabla 14.- Ecuaciones empleadas para el cálculo de volumen y el cálculo estequiométrico en el presente trabajo.....	116
Tabla 15.- Cálculo estequiométrico de reacción del Peróxido de Hidrógeno por efecto de la enzima Catalasa en miel de abeja Apis Mellifera.....	118
Tabla 16.- Resultados de las variables medidas y/o evaluadas para la muestra de miel Mangle M-II procedente de El Rosario Sinaloa VS La miel de Manuka procedente de Nueva Zelanda.	122
Tabla 17.- Resultados de las variables medidas y/o evaluadas para la muestra de miel obtenida directamente de productores del estado de Morelos (primera cosecha del año 2015, durante los meses de marzo-abril).....	122
Tabla 18.- Resultados de las variables medidas y/o evaluadas para la muestra de miel obtenida en el Congreso de Michoacán. Las muestras son de diferentes cosechas y proceden de diferentes estados de la República Mexicana.....	123
Tabla 19.- Variables medidas y/o evaluadas para las muestras de miel obtenidas en el Congreso de Querétaro 2018. Las muestras proceden de diferentes estados de la República Mexicana. ...	124
Tabla 20.- Resultados de las variables medidas y/o evaluadas para la muestra de miel obtenida en el Congreso de Chihuahua.....	124

Tabla 21.- Estados y número de muestras analizadas que no presentaron evidencia de contener enzima Catalasa.	125
Tabla 22.- Número de muestras de miel que contienen Catalasa y total de muestras analizadas por estado.	128
Tabla 23.- Trabajos futuros propuestos para dar continuidad a la investigación de enzima Catalasa en la miel de abejas europeas Apis Mellifera u otras especies de abejas.....	134

Índice de Gráficas:

GRÁFICA 1.- Perfiles de los espectros en la zona NIR de mieles de Mangle, Manuka y tabla de datos miel de Mangle M-MANG-II del Pacífico Mexicano, Sinaloa y miel de MANUKA de Nueva Zelanda.	42
GRÁFICA 2.- Gráficas separadas de cada una de las muestras de mangle estudiadas.	42
GRÁFICA 3.- Espectros independientes en la región NIR para las muestras de Mangle y Manuka.....	43
GRÁFICA 4.- Espectro de la Absorbancia en la región NIR para las muestras de miel de Mangle y Manuka.	44
GRÁFICA 5.- Gráficas separadas de los Espectros de Absorbancia las para muestras de miel de Mangle y Manuka.	45
GRÁFICA 6.- Gráfica de los espectros de Absorbancia de cada una de las muestras de miel de Mangle y la muestra de miel de Manuka.	46
GRÁFICA 7.- Espectros NIR de Trasmítancia de las muestras de miel de mangle y manuka.....	47
GRÁFICA 8.- Gráficas separadas de trasmítancia NIR para las muestras de miel de Mangle y Manuka.	48
GRÁFICA 9.- Espectros NIR por separada para cada una de las muestras de miel de Mangle y la muestra de miel de Manuka.	49
GRÁFICA 10.- Espectros en el rango UV-Vis-NIR para las muestras de miel de Mangle del Océano Pacífico de Sinaloa, Chiapas y la miel de Manuka.	50
GRÁFICA 11.- Figura 13.- Gráficas separadas, en la región UV-Vis de la muestras de miel de Mangle y Manuka.	51
GRÁFICA 12.- Gráficas de perfiles para cada Espectro en zona UV-Vis para las muestras de miel de Mangle y Manuka.	52
GRÁFICA 13.- Gráficas de los espectros de Absorbancia de las muestras de miel de Mangle y Manuka.	53
GRÁFICA 14.- Gráficas separadas para las muestras de miel de Mangle y la muestra de miel de Manuka.....	54
GRÁFICA 15.- Gráficas individuales para cada muestras de miel de Mangle y de Manuka.	55
GRÁFICA 16.- Perfiles de los espectros de Trasmítancia UV-Vis de las muestras de miel de Mangle y de la muestras de miel de Manuka.....	56

GRÁFICA 17.- Gráficas separadas de los perfiles de los espectros de Trasmítancia UV-Vis de las muestras de miel de Mangle y la muestra de miel de Manuka.	57
GRÁFICA 18.- Gráficas de perfiles de los espectros de Trasmítancia para cada muestra de miel de Mangle y de la miel de Manuka, en la zona UV-Vis.	58
GRÁFICA 19.-Perfiles de los espectros en la zona NIR y tabla de datos de las muestras de miel que contienen Catalasa procedentes del estado de Morelos.	60
GRÁFICA 20.- Gráficas separadas de los perfiles de los Espectros NIR para cada una de las muestras de miel del estado de Morelos.	60
GRÁFICA 21.- Perfiles de los Espectros NIR para cada una de las muestras de miel de Morelos.	61
GRÁFICA 22.- Perfiles de los espectros de Absorbancia NIR para las muestras de miel de Morelos.	62
GRÁFICA 23.- Gráficas separadas de los perfiles de Absorbancia NIR de las muestras de miel de Morelos.	63
GRÁFICA 24.- Perfiles de los espectros NIR de Absorbancia para cada una de las muestras de miel de Morelos.	64
GRÁFICA 25.- Perfiles de los espectros de Trasmítancia NIR de las muestras de miel del estado de Morelos.	65
GRÁFICA 26.- Gráficas separadas de los espectros de Trasmítancia de las muestras de miel de Morelos.	66
GRÁFICA 27.- Gráficas de los Perfiles de Trasmítancia para cada muestra de miel de Morelos.	67
GRÁFICA 28.- Perfiles de los Espectros UV-Vis de las muestras de miel de Morelos.	68
GRÁFICA 29.- Gráficas separadas de los perfiles de los Espectros UV-Vis de las diferentes muestras de miel de Morelos.	69
GRÁFICA 30.-Gráfica de Espectros UV-Vis para cada una de las muestras de miel de Morelos.	70
GRÁFICA 31.- Perfiles de los espectros de Absorbancia UV-Vis de las muestras de miel de Morelos.	71
GRÁFICA 32.- Gráficas separadas de los perfiles de los espectros de Absorbancia UV-Vis de las muestras de miel de Morelos.	72
GRÁFICA 33.- Perfiles de los espectros e Absorbancia UV-Vis para cada una de las muestras de miel de Morelos.	73

GRÁFICA 34.- Perfiles de los espectros de Trasmítancia UV-Vis de las diferentes muestras de miel del Estado de Morelos.	74
GRÁFICA 35.- Gráficas separadas de los perfiles de Trasmítancia Uv-Vis de cada una de las muestras de miel de Morelos.....	74
GRÁFICA 36.- Perfiles de los espectros de Trasmítancia UV-Vis para cada una de las muestras de miel de Morelos.	75
GRÁFICA 37.- Perfiles de los espectros en la zona NIR y tabla de datos de las muestras que contienen Catalasa procedentes del estado de Michoacán.	76
GRÁFICA 38.- Gráficas separadas de los perfiles de los espectros NIR de cada muestra de miel de Michoacán.	77
GRÁFICA 39.- Perfiles de los Espectros NIR para cada una de las muestras de miel de Michoacán.	78
GRÁFICA 40.- Perfiles de los espectros de Absorbancia NIR delas muestras de miel de Michoacán.	78
GRÁFICA 41.- Gaficas separadas de los perfiles de los espectros de Absorbancia NIR de las muestras de miel de Michoacán.....	79
GRÁFICA 42.- Gafica de perfiles NIR de Absorbancia para cada una de las muestras de miel de Michoacán.	79
GRÁFICA 43.- Perfiles de los espectros de Trasmítancia NIR de las muestras de miel de Michoacán.	80
GRÁFICA 44.- Gráficas separadas de los perfiles de Trasmítancia NIR de las muestras de miel de Michoacán.	81
GRÁFICA 45.- Perfiles de los espectros de trasmítancia para cada una de las muestras.....	81
GRÁFICA 46.- Perfiles de los espectros UV-Vis de las muestras de miel de Michoacán.....	82
GRÁFICA 47.- Gráficas separadas de los perfiles de los Espectros de cada una de las muestras de miel Michoacán.	82
GRÁFICA 48.- Perfiles de los Espectros UV-Vis para cada una de las muestras de miel de Michoacán.	83
GRÁFICA 49.- Gráficas separadas de los espectros de Trasmítancia UV-Vis de las muestras de miel de Michoacán.....	83
GRÁFICA 50.- Perfiles de los espectros de Trasmítancia UV-Vis de las muestras de miel de Michoacán.	84

GRÁFICA 51.- Perfiles de los espectros en la zona NIR y tabla de datos de las muestras de miel que contienen Catalasa procedentes del estado de Querétaro.....	85
GRÁFICA 52.- Figura 54.- Gráficas separadas de los perfiles de los Espectros NIR de la muestras de miel de Querétaro.	86
GRÁFICA 53.- Perfiles de los Espectros NIR para cada una de las muestras de miel de Querétaro.	86
GRÁFICA 54.- Perfiles de los espectros de Absorbancia NIR de las muestras de miel de Querétaro.	87
GRÁFICA 55.- Gráficas separadas de los perfiles de los espectros de Absorbancia NIR de las muestras de miel de Querétaro.	87
GRÁFICA 56.- Perfiles de los espectros de Absorbancia NIR de las muestras de miel de Querétaro que contienen Catalasa.....	88
GRÁFICA 57.- Perfiles de los espectros de Trasmittancia NIR de las muestras de miel de Querétaro.....	88
GRÁFICA 58.- Gráficas separadas de los perfiles del espectro de Trasmittancia NIR de las muestras de miel de Querétaro.	89
GRÁFICA 59.- Perfiles de los Espectros UV-Vis de las muestras de miel de Querétaro.....	89
GRÁFICA 60.- Gráficas separadas de los Espectros UV-Vis de las muestras de miel de Querétaro.	90
GRÁFICA 61.- Perfiles de los espectros de cada una de las muestras de miel de Querétaro.....	90
GRÁFICA 62.- Perfiles de los espectros de Absorbancia UV-Vis de las muestras de miel de Querétaro.....	91
GRÁFICA 63.- Gráficas separadas de los perfiles de los espectros de Absorbancia UV-Vis de las muestras de miel de Querétaro.	91
GRÁFICA 64.- Perfiles de los espectros de Absorbancia UV-Vis para cada una de las muestras de miel de Querétaro.	92
GRÁFICA 65.- Perfiles de los espectros de Trasmittancia UV-Vis de las muestras de miel de Querétaro.....	92
GRÁFICA 66.- Gráficas separadas de los perfiles de las muestras de miel de Querétaro.....	93
GRÁFICA 67.- Perfiles de los espectros de Trasmittancia UV-Vis para cada una de las muestras de miel de Querétaro.	93

GRÁFICA 68.- Perfiles de los espectros en la zona NIR y tabla de datos de las muestras de miel que contienen Catalasa procedentes del estado de Chihuahua.	95
GRÁFICA 69.- Gráficas separadas de los perfiles de los Espectros NIR de las muestras de miel de Chihuahua.	95
GRÁFICA 70.- Perfiles de los Espectros para cada una de las muestras de miel de Chihuahua.	96
GRÁFICA 71.- Perfiles de los espectros de Absorbancia NIR de las muestras de miel de Chihuahua.	96
GRÁFICA 72.- Perfiles de los espectros de Absorbancia NIR de las muestras de miel de Chihuahua.	97
GRÁFICA 73.- Gráficas separadas de los perfiles de los espectros de Absorbancia de las muestras de miel de Chihuahua.	97
GRÁFICA 74.- Perfiles de los espectros de Absorbancia NIR para cada una de las muestras de miel de Chihuahua.	98
GRÁFICA 75.- Perfiles de los espectros de Trasmisión NIR de las muestras de miel de Chihuahua.	98
GRÁFICA 76.- Gráficas separadas de los perfiles de los espectros de Trasmisión NIR de las muestras de miel de Chihuahua.	99
GRÁFICA 77.- Perfiles de los espectros de Trasmisión NIR para cada una de las muestras de miel de Chihuahua.	100
GRÁFICA 78.- Perfiles de los Espectros UV-Vis de las muestras de miel de Chihuahua.	100
GRÁFICA 79.- Gráficas separadas de los Espectros UV-Vis de las muestras de miel de Chihuahua.	101
GRÁFICA 80.- Perfiles de los Espectros UV-Vis de las muestras de miel de Chihuahua.	101
GRÁFICA 81.- Perfiles de los espectros de Absorbancia de las muestras de miel de Chihuahua.	102
GRÁFICA 82.- Perfiles de los espectros de Absorbancia UV-Vis de las muestras líquidas (sin cristales) de miel de Chihuahua.	102
GRÁFICA 83.- Gráficas separadas de los espectros de Absorbancia de las muestras de miel de Chihuahua.	103
GRÁFICA 84.- Perfiles de los espectros de Absorbancia UV-Vis para cada una de las muestras de miel de Chihuahua.	104
GRÁFICA 85.- Perfiles de los espectros de Trasmisión UV-Vis de las muestras de miel de Chihuahua.	105

GRÁFICA 86.- Gráficas separadas de los perfiles de los espectros de Transmitancia UV-Vis de las muestras de miel de Chihuahua.	105
GRÁFICA 87.- Perfiles de los espectros de Transmitancia Uv-Vis para cada una de las muestras de miel de Chihuahua.	106
GRÁFICA 88.- Gráfica y tabla de pérdida de Oxígeno en g. a diferentes tiempos durante la síntesis Catalasa-Peróxido de Hidrógeno.	110
GRÁFICA 89.- Comparativo de Volumen VS Tiempo de la producción de O ₂ en la síntesis de H ₂ O ₂ por efecto de la enzima Catalasa.	119
GRÁFICA 90.- Gráfica por estados de la República Mexicana en los cuales fue posible obtener muestras de miel, analizarlas y detectar contenido de Catalasa.	131

CAPÍTULO I.

1. INTRODUCCIÓN

La miel de abejas ha sido considerada además de alimento, también como un producto con aplicación en salud humana para sanar, desde simples resfriados hasta el tratamiento de heridas altamente infectadas tales como úlceras diabéticas, gangrena de Fournier, quemadura e incluso cirrosis hepática. Los estudiosos de la salud humana han realizado aplicación de miel para mejorar las condiciones de salud de algunas personas, pero ha sido hasta fechas recientes que se ha intensificado el interés en la miel y sus beneficios, gracias a las sustancias y características que la miel posee.

Actualmente en el mercado internacional, existe una miel que detenta el registro de medicamento, (<https://www.manukaguard.com/>, s.f.). Cuya fuente es una planta llamada MANUKA (*Leptospermum scoparium*) planta que se cultiva en Nueva Zelanda con el propósito de aprovechar el néctar para que las abejas elaboren la miel mencionada.

La tecnología actual (HPLC), (RAMAN), (ESPECTROSCOPIA NIR) apoya de manera importante los trabajos de investigación pero también existen métodos básicos y funcionales que proporcionan resultados confiables sin incurrir en costos elevados, para la miel como alimento o medicamento es fundamental cumplir las normas, nacional o internacional aseguren la calidad ; se hace referencia a la NMX-F-036-981 (SEPAFIN, DGN, , 1981) y El Codex Alimentarius (Comisión del Codex Alimentarius, 2000) normas que rigen la calidad de la miel para el comercio internacional.

1.1 Antecedentes

Hoy la miel es objeto de estudio formal en laboratorios y hospitales, en algunos países de Europa del Este ha sido clasificada por sus origen botánico y propiedades medicinales e inclusive llega a venderse en farmacias del mismo modo que los medicamentos de patente u homeópatas.

En el mercado internacional existe una gran variedad de mieles que proceden de diferentes regiones geográficas y por lo tanto de diversas fuentes botánicas (plantas), las que suministran diferentes sustancias que le transfieren a la miel propiedades tanto nutricional como medicinal.

Un caso interesante es la miel de Manuka, procedente de Nueva Zelanda ya que ha despertado gran interés en particular, puesto que independientemente que posee propiedades antibacterianas gracias a su elevada osmolaridad (como todas las mieles de abeja) también una enzima que le confiere propiedades diferentes e interesantes con respecto del común de las mieles de abejas, gracias a esto dicha miel posee una clasificación FUM (Factor Único Manuka) factor que le permite ejercer una acción antimicrobiana equivalente a un porcentaje similar al del ácido fenólico en la solución (Rodríguez Ramírez & Humbert González, 2011).

La experiencia en apicultura (de más de 50 años), el conocimiento de la gran diversidad de climas que posee la República Mexicana y su gran variedad plantas que permiten a las abejas elaborar una amplia gama de mieles de gran valor alimenticio y medicinal (características que incrementa día con día el interés de los consumidores en el mercado interno y externo) decidimos investigar a fondo lo relacionado con la miel de Nueva Zelanda.

Buscando en la literatura científica se encontró que posee una enzima llamada CATALASA misma que **actúa como barrera fisiológica para eliminar radicales libres, en este caso**, específicamente por su capacidad para sintetizar el **peróxido de hidrógeno** (H₂O₂) generado durante el

proceso de síntesis celular (Céspedes Miranda, Hernández Lantigua , & LLópez Janer, 1996), cuyas propiedades benéficas (del peróxido de hidrógeno) en el tratamiento de heridas ha sido constatada previamente por otros investigadores (Álvarez-Suarez, Daimy Díaz, & Yadiley Estevez, 2010), (Othman, 2013), (Haryanto, 2012) pero que en exceso causa retraso en el proceso y tiempo de sanación en las heridas.

1.2 Determinación de la calidad de la miel

La calidad de los productos es un factor fundamental que garantiza los efectos deseados. En 1820 el químico alemán Frederick Accum fue el primero en poner en alerta la problemática en su libro *Treatise on Adulteration on Foodan Culinary Poison*. En nuestro caso y para la obtención de las muestras (LOEZA, 2003) (Broca, 2014)

La calidad, pureza y limpieza de la miel son ineludibles para garantizar el éxito del resultado de las pruebas de laboratorio y su posible posterior aplicación como medicamento. Por ello, insistir en el cumplir la normatividad, (SEPAFIN, DGN, , 1981) y El Codex Alimentarius (Comisión del Codex Alimentarius, 2000) , son mandatorios.

Para nuestro estudio hemos obtenido muestras de miel cuya calidad está basada en las técnicas de buenos hábitos de producción (LOEZA, 2003) como primera condición, también hemos seleccionado productores que cumplen con los buenos hábitos de producción y las normas internacionales que regulan la calidad de la miel, se ha recurrido como fuente de suministro de muestras de miel directamente con productores confiables, también se obtuvieron muestras en los eventos apícolas denominados “Congreso Internacional de Actualización Apícola” organizados por La AMVEA (La Asociación De Médicos Veterinarios Especialistas en Abejas), SAGARPA (Secretaría De Agricultura,

Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) y Gobiernos Estatales sedes del evento, dentro de las actividades que se celebran en el “Congreso Apícola” realizan una evaluación sensorial de mieles de productores registrados en su padrón. Adicional se realizó una evaluación por medio del “COPAM” (*Caracterización Óptica Particular De La Miel*) (Broca, 2014).

Con referencia a la miel de Manuka (originaria de Nueva Zelanda) y de la información obtenida se tomó conocimiento de lo siguiente:

- 1.- Posee certificación como medicamento.
- 2.- El néctar utilizado por las abejas procede de la planta de Manuka (*Leptospermum scoparium*).
- 3.- Es probable que la planta de Manuka sea la más generalizada, abundante de las especies leñosas ambientalmente tolerantes en Nueva Zelanda (Ronghua et al., 1984). Se encuentra desde el cabo Reinga hasta la isla Stewart, desde el nivel del mar hasta arriba de la línea de árboles (Cockayne, 1928; Scott, 1977; Ronghua et al., 1984) tan alto como c.1600 m (Esler y Astridge, 1974). Puede tolerar suelos con baja fertilidad, alta acidez, bajo o alto contenido de humedad; es capaz de soportar sitios expuestos al viento y aerosoles de sal (Burrell, 1965; Burrows, 1973). También es tolerante a las agresiones, incluidos los sitios ultramáficos con alto contenido de níquel y cromo (Connor, 1985). Manuka también se encuentra comúnmente en sitios anegados, desde tierras bajas hasta pantanos de montaña o pakihis en el noroeste de Nelsony Westland (Cook et al., 1980). Johnson (1972) estudió la vegetación a orillas del lago alrededor de los lagos Manapouri y Te Anau, y sugirió que el sistema de raíces de manuka puede tolerar inundaciones continuas de hasta 272 días”. (Derraik G. B., 2008)

Con base en lo anterior e investigar si existe trabajos previos para determinar las referencias científicas y bien documentadas que permita constatar la existencia de la enzima CATALASA en mieles de origen mexicano, se pensó en plantear la siguiente hipótesis:

1.3 Hipótesis

Dada la biodiversidad botánica de la República Mexicana (referida en catálogos de la flora nectarífera y polinífera de algunos estados de la República Mexicana) como ejemplo citamos el de La Península de Yucatán ((SADER)*, (SAGARPA), (COTECOCA)**, 1998) y la variedad de miel producida en los litorales e interior del país, se considera que podría existir mieles de abejas europeas (*Apis Mellifera*) que contengan enzima Catalasa, en cantidad similar o superior a la contenida en la miel producida en Nueva Zelanda por (*Apis Mellifera*) a partir del néctar de la planta de Manuka (*Leptospermum scoparium*), esta planta se considera endémica y es posible encontrarla en casi todo el territorio de dicho país pero su principal hábitat está ubicado en las zonas costeras.

Para poder confirmar esta hipótesis en uno u otro sentido se debe contar con un método que permita la detección de la enzima Catalasa en miel de abejas (*Apis Mellifera*).

***SADER, antes SAGARPA**

****COTECOCA (Comisión Técnico Consultiva de Coeficientes de Agostadero)**

1.4 Objetivos

Objetivo General:

Investigar la existencia de un método de bajo costo, con elementos de fácil acceso (un vaso, miel y peróxido de hidrógeno) para los apicultores, in situ y fiable, para aplicación directa o adecuación que permita determinar la existencia de CATALASA en miel producida en la República Mexicana por abejas europeas (*Apis Mellifera*).

Objetivos Particulares:

- Seleccionar para el presente estudio las características básicas de las muestras de miel tales como: densidad específica, humedad, azúcares totales, sólidos, pH sugeridas por la NMX-F-036-981 (SEPAFIN, DGN, , 1981).
- Obtener para analizar mieles mexicanas cuyo néctar proceda de al menos tres orígenes botánicos diferentes: Cazahuate (*Ipomoea murucoides*), Cítricos (*Citrus*) y Mangle (*Rhizophora mangle*) y producida en diferentes estados de la República Mexicana para investigar la existencia o inexistencia de enzima Catalasa en ellas.
- Realizar la Caracterización óptica de la miel mediante el Uv-Vis y NIR para establecer el origen geográfico y climático aplicando el método COPAM (Broca, 2014).

CAPÍTULO 2.

2.1 Contenido enzimático de la miel.

Se entiende por miel la sustancia dulce natural producida por abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje.

Miel de flores o miel de néctar es la miel que procede del néctar de las plantas.

Miel de mielada o mielato es la miel que procede principalmente de excreciones que los insectos succionadores como los pulgones (*Áfidos*) (Simbaqueba C., Serna, & Posada-Flores, 2014) dejan sobre las partes vivas de las plantas, o de secreciones de partes vivas de las plantas.

La miel se compone esencialmente de diferentes azúcares, predominantemente fructosa y glucosa además de otras sustancias como ácidos orgánicos, enzimas y partículas sólidas derivadas de la recolección. El color de la miel varía de casi incoloro a pardo oscuro. Su consistencia puede ser fluida, viscosa, o total o parcialmente cristalizada. El sabor y el aroma varían, pero derivan de la planta de origen. (Comisión del Codex Alimentarius, 2000).

La miel se emplea en diversas aplicaciones, como complemento alimenticio, en cosmetología, como medicamento para diversas afecciones en la salud (infecciones por hongos, virus y bacterias) también se emplea como cicatrizante en heridas y como reparador celular en quemaduras.

Las principales propiedades de la miel que la hacen una sustancia apreciada como producto para la salud son: el alto contenido de carbohidratos, la baja concentración de humedad hace de ella una sustancia higroscópica (propiedad que extrae los líquidos de los organismos patógenos) además la elevada viscosidad de la miel que es variable en función del porcentaje de humedad y temperatura pero con valores desde $(3.440 \pm 43 \text{ cP}; 6,531 \pm \text{ cP aprox.})$ (Andrade, Torres, & Pérez, 2016) lo que dificulta el movimiento y la vida de los microorganismos en el interior de ella. Además, los beneficios por su contenido de vitaminas, minerales, flavonoides y enzimas le otorga propiedades que facilita la asimilación en nuestro organismo lo que genera beneficios antioxidantes y de regeneración del tejido celular (ver tabla 3).

Una definición describe a las Enzimas como proteínas, polímeros compuestos por moléculas de aminoácidos químicamente unidas que catalizan una amplia gama de reacciones químicas dentro de los organismos.

La actividad catalítica de las enzimas depende de su estructura tridimensional (3D). Dentro de esta estructura 3D de las enzimas hay cavidades llamadas "sitio activo" que muestran afinidad por moléculas específicas (llamadas sustratos) que eventualmente se convertirán en productos. (Ramírez Ramírez & Ayala Aceves, 2014)

Otra definición es la siguiente: Las enzimas son sustancias que provocan que las reacciones químicas ocurran miles de veces más rápido (Ayala Aceves & Ramírez Ramírez, 2012) como la invertasa que desdobla los carbohidratos de complejos a simples lo que facilita la asimilación por parte de las células de nuestro organismo coadyuvando en la multiplicación de éstas, acelerando la sanación de las heridas.

NOTA1: Para darnos una mejor idea del trabajo de las enzimas hemos seleccionado a manera de ejemplo la siguiente información: La enzima más eficiente que se conoce a la fecha cataliza la descarboxilación de un sustrato denominado oritidina 5'-fosfato (OMP por sus siglas en inglés), y es llamada OMP descarboxilasa. La reacción no catalizada tarda 78 millones de años en ocurrir. Afortunadamente, la enzima OMP descarboxilasa acelera la reacción 1017 veces, por lo que ésta ocurre en tan sólo 25 milésimas de segundo, (Ayala Aceves & Ramírez Ramírez, 2012).

NOTA 2: En la información consultada (ver bibliografía pág. 135) para este trabajo no se encontró evidencia de la existencia de la enzima, descarboxilasa, en la miel de abejas.

2.2 Clasificación general de las enzimas:

En la edición de 1958 de su libro, Dixon y Webb declararon que "el número de enzimas es grande, más de 650, pero no tan grande como quizás podría esperarse en vista de la complejidad de las reacciones que ocurren en la materia viva"

El número de enzimas clasificadas por la Comisión de Enzimas ha aumentado de manera constante a lo largo de los años de 712 en 1964 a 3196 en 1992 (véase Nomenclatura de Enzimas, 1965, 1973, 1979, 1992) para el desarrollo constante de la lista de enzimas clasificadas) y se están aproximando a 3500 (ver <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/> para las adiciones más recientes). Los desarrollos más recientes han implicado cambios en la información suministrada y por supuesto, una expansión constante del número de enzimas clasificadas. (Keith Tipton, History of the enzyme nomenclature system, 2000).

A continuación, se presenta una tabla que agrupa de modo general la clasificación de las enzimas, en el primer grupo Catalasa aparecen las Oxidorreductasa y dentro de este grupo se ubica la.

TABLA 1.- CLASIFICACIÓN GENERAL DE LAS ENZIMAS. (KEITH TIPTON, 2000). (KEITH TIPTON, 2000)

CLASIFICACIÓN GENERAL DE ENZIMAS	
NOMBRE	ACTIVIDAD
OXIDORREDUCTASAS	Transfieren hidrógeno (H) o electrones (e ⁻)
TRANSFERASAS	Catalizan la transferencia de un grupo químico (distinto del hidrógeno) de un sustrato a otro.
HIDROLASAS	Catalizan las reacciones de hidrólisis
LIASAS	Catalizan reacciones de ruptura o soldadura
ISOMERASAS	Catalizan la interconversión de isómeros
LIGASAS	Catalizan la unión de dos sustratos con hidrólisis simultánea de un nucleótido trifosfato.

No todas las enzimas existen en la miel de abejas, por lo que a continuación se muestra una tabla de las principales enzimas existentes en la miel de abejas europeas (*Apis Mellifera*).

TABLA 2.- DATOS SOBRE LAS PRINCIPALES ENZIMAS EXISTENTES EN LA MIEL DE ABEJAS EUROPEAS APIS MELLIFERA (WHITE, 1979), (CRANE, 1990).

PRINCIPALES ENZIMAS EN MIEL DE ABEJAS EUROPEAS (APIS MELLIFERA)			
NOMBRE DE LA ENZIMA	ORIGEN	FUNCIÓN	T° CRÍTICA DE AFECTACIÓN N °C
DIASTAZA (α- y β- amilasa)	ABEJA/NECTAR	Índice de frescura de la miel y probable participación en la digestión del polen por las abejas	70
B-glucosidasa	DESCONOCIDO	No establecida	80
INVERTASA (α-glucosidasa, sacarasa)	ABEJA/NECTAR	Desdoblar sacarosa en glucosa y fructosa	60
INULINASA	DESCONOCIDO	Hidrólisis de sacarosa para generar fructuosa y glucosa	>90
B-GLUCOSIDAZA	DESCONOCIDO	No establecido	80
FOSFATÁSA ÁCIDA	NECTAR	Liberación de fosfatos	Estable hasta 65
CATALASA	NECTAR	Destrucción del Peróxido de Hidrógeno	65-80
GLUCOSA-OXIDAZA	ABEJA	Oxidación de glucosa, formación de ácido glucónico y peróxido de hidrógeno	Estable hasta 55 por 30 minutos.

En el cuadro anterior podemos observar que en la miel de abejas (*Apis Mellifera*) existen dos enzimas que tienen funciones opuestas una es la enzima Glucosa-Oxidaza y la otra es la enzima Catalasa, la primera genera Peróxido de Hidrógeno que ayuda a la eliminación de algunos patógenos en los procesos infecciosos y la segunda, es decir la enzima Catalasa, se encarga de sintetizar el Peróxido de Hidrógeno y así controlar el exceso de éste (H_2O_2) el cual también se forma a partir de algunos microorganismos patógenos (*Streptococcus agalactiae*, *Staphilococcus aureus*, *Enterococcus feacalis*, *Helicobacter pilory*, *Clostridium Botulinum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* y otras más) (Dee A. Carter, 2016) que pudiera estar presente en la herida. Es aquí donde la enzima Catalasa juega un papel importante por su capacidad de metabolizar el Peróxido de Hidrógeno (H_2O_2) y durante ese proceso liberar Oxígeno que es fundamental para la regeneración celular. La mayoría de estas enzimas Catalasa, nueve en total, que han sido determinadas en función de su estructura cristalográfica. Algunas catalasas tienen subunidades pequeñas (masa molecular ≈ 60 kDa)* y otras grandes (masa molecular > 80 kDa). Las pequeñas son menos resistentes a la desnaturalización, unen (enlazan) NADPH**, tienen hemo *b**** y se inhiben e inactivan por sustrato: Mientras que las catalasas grandes son muy resistentes a la desnaturalización porque tienen un dominio extra en el C-terminal que es semejante a la flavodoxina, las Catalasas grandes tienen hemo *d*, presentan enlaces covalentes inusuales cercanos al sitio activo y son resistentes a concentraciones molares de H_2O_2 . (Díaz, 2003).

*uma (unidad de masa atómica).

**NADPH (Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato).

***hemo *b*, son proteínas transportadoras de oxígeno contenidas dentro de la hemoglobina.

****hemo *d* (es un derivado del hemo *b*).

Con respecto a la miel que es un producto complejo, es decir, que está integrado por una gran variedad de sustancias, resulta importante determinar la existencia de la o las sustancias que le confiere características y capacidades especiales. Pero también es importante cuantificar dicha sustancia, porque en función de la cantidad de la sustancia “activa” su capacidad curativa será directamente proporcional.

Para nuestro caso en particular las actividades del presente estudio se enfocarán en la detección de la Catalasa, enzima que como se mencionó anteriormente pertenece al grupo de la Oxidorreductasa*

*Hemos dejado de lado es estudio de las otras enzimas, porque no pertenecen a los trabajos de investigación para el presente estudio.

2.3 Importancia de la Catalasa en la salud animal y humana.

En la actualidad existen muchos y diversos estudios que muestran los beneficios que las mieles proporcionan en diversos tipos de heridas, siendo las primeras aplicaciones en animales de laboratorio y en animales que habían sufrido algún tipo de percance, es decir accidentes y/o cirugías. De los estudios realizados se observó que algunos tipos de mieles eran mejores que otros, finalmente se detectó que la miel de Manuka por su contenido de Catalasa mostró mayor efectividad, en cuanto a tiempo y calidad de la reparación de las heridas (ver tabla 3).

La siguiente tabla muestra efectos de la miel de abejas en procesos de sanación.

TABLA 3.- MUESTRAN DIEZ ESTUDIOS DE PROFILAXIS ANTIMICROBIANA CON APLICACIÓN DE MIEL DE ABEJAS APIS MALLIFERA.

Título	Propósito	Resultado
Effectiveness of Indonesian Honey on the Acceleration of Cutaneous Wound Healing: An experimental Study in Mice	Investigar la efectividad de la miel de Indonesia comparada con Apósitos Hidrocoloide de Tegaderm y Miel de Manuka	Los niveles de efectividad de la miel de Indonesia y la miel de Manuka (Leptospermum scoparium) fueron similares, efectivas en la reducción de la inflamación, aceleración de la granulación del tejido, en general la miel de Indonesia puede ser empleada tópicamente en apósitos como una terapia alternativa porque su efectividad es similar a la miel de Manuka e Hidrocoloide. (Haryanto, 2012)
Review of the Medicinal effects of Tualang Honey and a Comparison with Manuka Honey	Comparar los beneficios sobre heridas de animales versus la Miel de Manuka.	La miel de Tualang ha demostrado en pruebas de laboratorio y clínicamente controlados sobre animales, ser más efectiva que la miel de

		Manuka (TH) (Othman, 2013)
Susceptibility of Helicobacter pylori to the antibacterial activity of manuka honey	Determinar la sensibilidad de Helicobacter pylori ante la miel de Manuka usando muestras aisladas de la bacteria a partir de biopsias de úlceras gástricas.	Los resultados reportados aquí también plantean la posibilidad de que un agente antibacterial útil contra Helicobacter pylori podría ser encontrado en el polen o en un extracto del árbol de Manuka (Leptospermum scoparium) (N Al Somal, 1994)
Therapeutic Manuka Honey No Longer So Alternative	Evidenciar la eficacia desde estudios en animales, reporte de casos y ensayos clínicos.	Las compañías que producen y venden la miel de Manuka promueven altos estándares éticos y desalentar el uso de modelos animales para estudios de infecciones o cicatrización de heridas. Como siempre puede ser usada para tratar animales con cirugía o heridas accidentales, particularmente caballos (Dee A. Carter, 2016)

<p>UP-TO DATE OF HONEY FOR BURNS TREATMENT</p>	<p>El presente artículo presenta una evaluación extensa de las propiedades anti-infecciosas y anti-inflamatorias de la miel de abejas en heridas por quemaduras.</p>	<p>Las propiedades anti-infecciosas de la miel fueron confirmadas por medio de investigaciones de laboratorio y demostró tener una capacidad de amplio espectro anti-infeccioso sobre al menos OCHENTA especies de microorganismos incluidos Gam-positivos y Gam-negativos, bacterias aerobias y anaerobias. (A., 2013).</p>
<p>Honey” can Prevent Epidural Fibrosis Development After Laminectomy: An Experimental Study.</p>	<p>Una de las causas más importantes de la cirugía fallida de la espalda es el desarrollo de fibrosis epidural. Muchos métodos y sustancias han sido utilizados para prevenir el desarrollo de fibrosis epidural.</p> <p>En este estudio, realizado en ratas, se pretende evaluar los efectos de la "miel de manuka" en la fibrosis</p>	<p>Los sujetos se dividieron en dos grupos: Grupo 1 (n = 8), solo se realizó laminectomía (extirpación quirúrgica de una del segmento posterior de una vértebra) (Real Academia Nacional de Medicina, 2011) en el nivel L1; en el grupo 2 (n = 8), se realizó laminectomía en el nivel L1 y se aplicó miel de manuka (Leptospermum scoparium) en el área. Se demostró que la miel de manuka reduce el gado de</p>

	epidural.	fibrosis epidural en ratas después de la laminectomía. Creemos que la miel de manuka, se puede usar de manera segura en la clínica para heridas quirúrgicas, es decir se puede usar rutinariamente para prevenir el desarrollo de fibrosis epidural, después de la laminectomía. (Omur GUMALDI, 2013).
Honey: A Potential Therapeutic Agent for Managing Diabetic Wounds	Esta revisión, busca el potencial de la actividad antibacteriana de la miel en la herida diabética. Además, las formas en que la miel se puede usar como un agente de curación más seguro, más rápido y efectivo en comparación con otros medicamentos sintéticos en términos de resistencia microbiana y costos	La miel es una medicina alternativa que se considera una terapia adecuada con buenos resultados, es rentable y un agente natural, seguro y con rápido efecto curativo de heridas diabéticas. Sin embargo, se requiere de evidencias clínicas adicionales exitosas y pruebas de laboratorio validadas para establecer la miel como uno de los medicamentos tópicos alternativos más efectivos para tratamiento de heridas

		diabéticas. (Fahmida Alam, 2014)
Honey and wound dehiscence: A study of surgical wounds in the mandibular bed	Evaluar la eficacia de las propiedades curativas de la miel de Obudu (Región del sudeste de Nigeria Cerca de la frontera con Camerún) en pacientes que desarrollaron dehiscencias (heridas) tras resecciones mandibulares segmentarias.	El resultado que se obtuvo demostró que miel acelera la cicatrización de las heridas por dehiscencia* de la mandíbula reseca cuando se usa como apósito. Numéricamente, se completó más curación en la 5a semana del grupo experimental (n = 19, 52.8%) que en el grupo control (n = 13, 36.1%). La duración de la curación entre los sujetos en los grupos control y experimental, al final de la 9a semanas no mostró efecto significativo diferencia (p = 0,23). (CE Anyanechi, 2015)
Palliative Management of Malodorous Squamous Cell Carcinoma of the	Se presenta el caso de una mujer de 80 años con carcinoma de células escamosas en la cavidad oral fue ingresada para	La miel de manuka demostró ser segura y efectiva como tratamiento paliativo para reducir el olor y la inflamación en heridas

Oral Cavity With Manuka Honey	su atención con quejas y angustias relacionadas con mal olor extremo.	secundarias por carcinoma de células escamosas de la cavidad bucal. (Drain & Fleming, 2015)
Antibacterial potential of Manuka honey against three oral bacteria in vitro	Detectar la eficacia antibacteriana de diferentes mieles de manuka S. mutans (OMZ 918), P. gingivalis (OMZ 925) y A. actinomycetemcomitans (OMZ 299). Mientras que una miel suiza multifloral sirvió como “Miel Control” sin actividad intrínseca no peróxido, es decir no contenía Catalasa.	Miel de manuka por enzima de un valor NPA (Non Peroxide Activity) de 15 mostró ser un antibacteriano significativamente mejor comparado con las otras mieles. Todas las preparaciones de miel de Manuka fueron más efectivas para inhibir el crecimiento de P. gingivalis y A. actinomycetemcomitans, en lugar de S. mutans. En conclusión, el estudio mostró la eficacia antibacteriana dependiente de la miel de manuka. (patrick R. Schmidlin, 2013).

En ésta tabla se puede apreciar que no todas las mieles contienen enzima Catalasa, pero aun así los efectos de las mieles que no contienen Catalasa, dieron resultados interesantes en la sanación de las heridas.

* Dehiscencia es la abertura espontánea de una parte o de un órgano que se había suturado durante una intervención quirúrgica.

2.4 Comparación económica de métodos existentes.

Los costos en general, se pueden asumir con base al costo del equipo HPLC (16,000USD, 14,681€ aproximadamente igual a 320,000 MNX.) en que se determinan las propiedades físico-químicas a caracterizar. Estos equipos al ser especializados para otras áreas y no solo las propiedades de la miel, son sofisticados y permiten una amplia gama de análisis. En el caso de la miel, no existe un equipo exclusivo de determinación de valores para sus propiedades, que pueda tener un menor costo.

El costo de un método basado en un reactivo con material inocuo, en este caso peróxido de hidrógeno, cuesta alrededor de 7 USD / 7 € / 140 MNX para el proceso de la detección de la Catalasa en 100 muestras.

Con la información anterior puede inferirse que sin contar con inversión inicial, costos para mantenimiento de equipo y gastos por mano de obra especializada, este método, el de la aplicación directa del peróxido de Hidrógeno en la miel, será de mayor factibilidad económica y tecnológica que el análisis instrumental mediante NMR, HPLC o RAMAN (ver tabla 4).

CAPÍTULO 3. Metodología

3.1 Investigación de la Metodología para la Determinación de Enzima Catalasa en Miel de Abejas Mexicanas producida por Abejas europeas (*Apis Mellifera*).

La determinación enzimática en miel de abejas *Apis Mellifera*, es un tema estudiado con el propósito de asegurar la calidad de la miel en el mercado, ya que algunas de éstas son empleadas como indicadores de calidad y frescura o bien para determinar si la miel ha sido sometida a otros tipos de procesos tales como cosecha anticipada, calentamiento o inclusive adulteración.

3.2 Investigación de Métodos Aplicables a la detección de Enzima Catalasa en Miel de abejas europeas (*Apis Mellifera*)

En el presente estudio se han investigado técnicas (métodos) que se pueden aplicar para determinar la enzima catalasa en miel de abejas, la siguiente tabla muestra algunos de los métodos.

TABLA 4.- MÉTODOS PARA DETECCIÓN DE ENZIMAS QUE PUEDEN APLICAR PARA DETERMINAR LA EXISTENCIA DE LA CATALASA.

TÉCNICAS QUE PUEDEN APLICAR PARA LA DETECCIÓN DE CATALASA EN MIEL DE ABEJAS (<i>APIS MELLIFERA</i>)		
Nombre	Síntesis de función	Factibilidad Accesibilidad

<p>NMR Spectroscopy</p>	<p>Se basa en las propiedades atómicas del núcleo. Cuando se colocan en un campo magnético fuerte, ciertos núcleos resuenan con frecuencia característica en el rango de radiofrecuencias del espectro electromagnético. Las leves variaciones en esta frecuencia de resonancia dan información detallada sobre la estructura molecular en la que reside el átomo. (Neil E. Jacobsen, 2007).</p>	<p>Costo elevado (equipo.) Instalaciones especiales (laboratorio) Personal especializado</p>
<p>Raman Spectroscopy</p>	<p>Ésta técnica espectroscópica se basa en hacer incidir un haz de luz monocromática de frecuencia ν_0 sobre una muestra cuyas características moleculares se desea determinar y se examinar la luz dispersada, donde una fracción muy pequeña de la luz dispersada presenta un cambio frecuencial. La luz que mantiene la misma frecuencia ν_0 se conoce como dispersión de Rayleigh y no aporta información sobre la composición de la muestra. La luz dispersada que presenta frecuencias distintas de la frecuencia incidente es la que proporciona información sobre la composición molecular de la muestra y esa es la</p>	<p>Costo elevado (equipo) Instalaciones (laboratorio) Personal especializado</p>

	dispersión Raman (Colthup, Daly, & Wiberley, 2012)	
Cromatografía Líquida HPLC	<p>Técnica utilizada para separar componentes de una mezcla. Consiste en una fase estacionaria no polar (columna) y una fase móvil. La fase estacionaria es silica que se ha tratado con RMe₂SiCl*.</p> <p>La fase móvil actúa de portador de la muestra. La muestra es inyectada en solución en la fase móvil. Los componentes de la solución emigran de acuerdo a las interacciones no-covalentes de los compuestos con la columna. Estas interacciones químicas, determinan la separación de los contenidos en la muestra. La utilización de los detectores dependerá de la naturaleza de los compuestos a determinar. (LLOYD R. SNYDER, 2013)</p>	<p>Costo elevado (equipo)</p> <p>Instalaciones (laboratorio)</p> <p>Personal especializado</p>

Todos estos equipos que se emplean en la actualidad para determinación de sustancias en los laboratorios son útiles y confiables, pero están fuera de las posibilidades económicas de los apicultores promedio.

* RMe₂SiC, es una de las fases estacionarias más comunes de este tipo de cromatografía donde R es una cadena alquil (ver glosario) tal como C₁₈H₃₇ o C₈H₁₇ (alkyl (benzyl) dimethylammonium chloride)

NOTA 3: Aunque muchas mieles contienen Catalasa, no todas la contienen en cantidad suficiente para los fines de esta investigación; aspecto que se

comprobará durante el desarrollo de los análisis realizados a las diferentes muestras de miel.

3.3 Detección de Enzima Catalasa (CAT) en miel producida en México por abejas europeas *Apis Mellifera*.

Para el desarrollo de las pruebas en busca de **enzima Catalasa** (CAT) en las muestras de miel mexicana, producida por abejas europeas *Apis Mellifera*, se efectuaron básicamente cuatro fases de investigación.

FASE I Primero se investigó a través de diversos medios la existencia de laboratorios que tuvieran desarrollada algún tipo de técnica para efectuar dicha determinación, primero en instituciones educativas UAEM, UNAM, Secretarías de Estado (SAGARPA), Revistas especializadas (APITEC),

FASE II Búsqueda de laboratorios particulares interesados en el proyecto, la comunicación se efectuó, a través de llamadas telefónicas, internet e inclusive de manera presencial, desafortunadamente no aceptaron la respuesta fue que no contaban con una técnica o metodología desarrollada para ese propósito.

FASE III Esta etapa se focalizó en la revisión de información científica que nos aportara alguna técnica o bien una idea de cómo realizar los análisis tendientes a la detección de Catalasa en miel de abejas. u otro tipo de alimento que nos pudiera servir de guía para realizar el trabajo, realizados para detección de Catalasa en jugos de frutas, básicamente cítricos, aunque estos estudios se habían realizado con equipos de HPLC (de alto costo, (16,000USD, 14,681€ aproximadamente igual a 320,000 MNX.) y aunque estos artículos resultaron interesantes no aplicaban a nuestro caso de estudio ya que nuestro objetivo está centrado en la búsqueda de algún método que sea de fácil implementación en el aspecto

técnico y bajo costo, tomando en consideración que los apicultores, en su mayoría, son personas de recursos económicos que nos les permite invertir en equipos de alto valor. Adicional, la mayoría de ellos aprovechan la apicultura para generar recursos complementarios y sus tareas están apoyados en conocimientos empíricos transmitido normalmente por vía oral, o por asistencia a Congresos del ramo; en otros casos de modo autodidacta ya que en la actualidad no existe en México una carrera universitaria que esté diseñada específicamente para esta rama de la biología (la cría de las abejas y el beneficio de sus productos, es decir la apicultura). Actualmente la apicultura existe, pero como una materia adicional en carreras afines: Medicina Veterinaria Zootecnista, Biología, Ingeniería en Agronomía u otras relativas a las Ciencias Agropecuarias.

FASE IV Mediante la búsqueda en internet finalmente encontramos en YouTube un estudio realizado por alumnos de nivel técnico “Catalasa En Hígado De Pollo” (González Yoval, Jimenéz Arnda, García Morales, y Rodríguez segura, & Leuman, 2015) también observamos un trabajo similar donde otro grupo de alumnos de nivel técnico también, emplean **papa** (*Solanum tuberosum* L.) (Santos Castellanos, 2010). En ambos experimentos se puede observar la existencia de Catalasa, ellos, agregan sobre hígado de pollo macerado y/o la papa finamente picada, **Peróxido de Hidrógeno** H_2O_2 (agua oxigenada) para demostrar la reacción. Así de manera casi obvia se infiere que si existe enzima CATALASA en la miel de abejas, ésta reaccionará de manera similar a lo observado en los experimentos de los Profesores Pablo González e Yoval y Santos Castellanos, al añadirle el **Peróxido de Hidrógeno** H_2O_2 (agua oxigenada).

La imagen que se presenta a continuación esquematiza de manera sintetizada las fases del proceso de investigación.

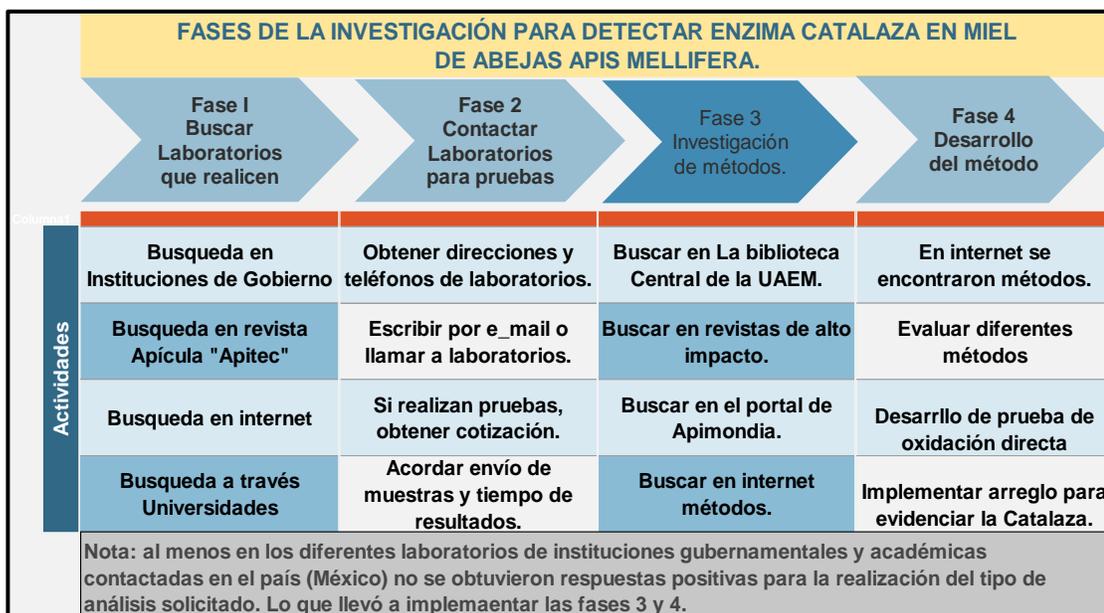


IMAGEN 2.- SÍNTESIS DE LAS ETAPAS DE INVESTIGACIÓN REALIZADAS EN EL PRESENTE TRABAJO PARA DETECTAR ENZIMA CATALASA (CAT) EN MIEL DE ABEJAS EUROPEAS APIS MELLIFERA.

3.4 APLICACIÓN DEL MÉTODO:

Al revisar el método expuesto en el trabajo realizado por el Prof. Pablo González Yoal (González Yoal, Jiménez Arnda, García Morales, y Rodriguez segura, & Leuman, 2015) se observó que adicional a la detección de la enzima Catalasa esta técnica también cumplía con aspectos considerados dentro de los objetivos planteados en el presente trabajo, es decir, facilidad en su aplicación, equipo elemental, tecnología básica, bajos costo y resultado confiable, en comparación con las otras técnicas evaluadas. Para concretar los resultados, únicamente debíamos complementar el estudio con el cálculo estequiométrico que nos permitiera realizar la cuantificación del principal producto de la reacción, en este caso, el Oxígeno (O₂) por lo que se decidió aplicar dicha técnica en las muestras de miel de abejas europeas Apis Mellifera.

Para la ejecución de la prueba, se procedió a reunir los materiales, el equipo necesario y la obtención de algunos de los parámetros indicados en la Norma Mexicana **NMX-F-036-981*** (ésta norma es concordante con el CODEX ALIMENTARIUS 2003) que se muestran a continuación, la tabla 5.

TABLA 5.- PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA MIEL INDICADOS POR LA NORMA MEXICANA NMX-F-036-981.

PARÁMETROS ESTABLECIDOS EN LA NMX-F-036-981		
PARÁMETRO	NORMA	PARÁMETROS**
HUMEDAD	NMX-F-036-981	% en g/100G (14-23)
DENSIDAD	NMX-F-036-981	g/dm ³ 1,398-1418
VISCOSIDAD	NMX-F-036-981	@21°C 10,000cps
COLOR	Escala Pfund	mm 8-140
pH	NMX-F-036-981	N/I
GLUCOSA	NMX-F-036-981	% en g/100G Máximo 38
SACAROSA	NMX-F-036-981	% en g/100G Máximo 8
FRUCTUOSA	NMX-F-036-981	% en g/100G N/I
HIDROXIMETIL FURFURAL (HMDF)	Comisión del Codex Alimentarius 2003	mg/Kg*** (No más de 80)
AZÚCAR REDUCTORES	NMX-F-036-981	% en g/100G

		Mínimo 63.88
CENIZAS	NMX-F-036-981	% en g/100G Máximo 0.60
DEXTRINAS	NMX-F-036-981	% en g/100G Máximo 8
SÓLIDOS INSOLUBLES EN AGUA	NMX-F-036-981	% en g/100G Máximo 0.3
MICROBIOLÓGICAS	El producto objeto de esta Norma no debe contener microorganismos patógenos, toxinas microbianas e inhibidores microbianos.	
MATERIA EXTRAÑA OBJETABLE	El producto objeto de esta Norma debe estar libre de: fragmentos microscópicos de insectos y excretas de roedores, así como de cualquier otra materia extraña. No se permite el uso de aditivos alimentarios para su conservación, aguarla, ni mezclarla con almidón, melazas, glucosa, dextrinas o azúcares.	
CONTAMINANTES QUÍMICOS****	El producto objeto de esta Norma no deberá contener ningún contaminante químico (plaguicidas u otros) en cantidades que puedan presentar un riesgo para la salud.	

* Realizar la totalidad de los análisis sugeridos por la NMX-F-036-981 tendría un costo superior a los 100,000.00 MXN por lo que se realizó una selección de los análisis tal que garantice que la miel es apta para el presente estudio, estos análisis se muestra a continuación de la NOTA 4.

****** Los datos presentados pueden variar porque dependen de la región, el clima y la fuente botánica de donde procede el néctar que las abejas colectan para elaborar la miel.

******* NMX-F-036-981 (Norma Mexicana) Indica como máximo 150 mg/Kg.

******** NMX-F-036-981 (Norma Mexicana) Los límites máximos para estos contaminantes quedan sujetos a los que establezca la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

3.5 Obtención de las muestras de miel de abeja Apis Mellifera.

Para el desarrollo del presente estudio se obtuvieron cinco paquetes o grupos de muestras de miel procedentes de diferentes regiones de México, todas producidas por la misma especie de abejas, Apis Mellifera, estos grupos de muestras y sus resultados se presentarán durante el desarrollo del proyecto de investigación.

El primer grupo de muestras fue obtenido en el estado de Sinaloa en una región de manglares ubicados en la costa del Océano Pacífico, pero también en este grupo se incluye una única muestra de Mangle de la Zona del Océano Pacífico del Estado de Chiapas.

El segundo grupo son muestras de miel procedentes del Estado de Morelos, muestras que fueron obtenidas directamente de los productores,

El Tercer grupo de muestras de miel analizadas se obtuvieron en el XXIV “Congreso Internacional de Actualización Apícola” celebrado en la Ciudad de Morelia, Michoacán en el año 2017*

***Los eventos conocidos como “Congreso Internacional de Actualización Apícola” son organizados principalmente por la SAGARPA (Secretaría De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural,**

Pesca y Alimentación) y la ANMVEA (Asociación Nacional de Médicos Veterinarios Especialistas en Abejas, A.C.).

El Cuarto grupo de 16 muestras de miel de abejas *Apis Mellifera* se obtuvo en el XXV “Congreso Internacional de Actualización Apícola”, celebrado en Querétaro en el año 2018.

El Quinto grupo fue obtenido durante la celebración del XXVI “Congreso Internacional de Actualización Apícola” realizado en Ciudad Juárez, Chihuahua en el presente año (2019).

Una vez obtenidas las muestras de miel se procedió a la medición de los parámetros de nuestro interés (*ver Objetivos particulares*) de acuerdo a la norma NMX-F-036-981, esta evaluación también está apoyada en nuestra experiencia en apicultura y manejo de mieles (más de 58 años). Para la medición de los parámetros se usó el equipo y material que se detalla en la siguiente lista.

NOTA 4.- El equipo y material para determinar la densidad específica, humedad, azúcares totales, sólidos, pH (ver en el anexo A).

Los parámetros que se han seleccionados para evaluar las muestras de miel que serán estudiadas, deben asegurar la madurez y calidad, son los siguientes:

- 1.- pH (índice de acidez o alcalinidad)*
- 2.- Sólidos (Azúcares totales).
- 3.- Densidad en g/cm³.
- 4.- D20/20 (Densidad relativa) g/cm³.
- 5.- Humedad en porcentaje.
- 6.- Catalasa-positivo o Catalasa-negativo (+ ó -)**.

* La medición de este parámetro se realizó únicamente para las muestras cuyo volumen era suficiente para trabajar en nuestros equipos.

** Este análisis se realizó en la totalidad de las muestras.

La captación de las muestras debe realizarse en recipientes estériles para evitar una posible contaminación y el acondicionamiento de las muestras, depende en gran manera del proceso de extracción, cuando la extracción es por prensado deberá esperar un período de 10 a 15 días, si el proceso es por centrifugación el tiempo de reposo para las muestras de miel deberá ser de cinco a siete días y si el modo de obtención de las muestras es por pipeteo directo del panal el análisis puede realizarse in situ, las muestras que requieren un período de reposo pueden estar a temperatura ambiente en un lugar seco y alejado de la luz.

3.6 Determinación de la caracterización óptica particular de la miel (COPAM) en el rango UV-Vis-NIR del espectro Electromagnético.

Las nuevas tecnologías aplicadas al estudio de productos alimenticios como la miel de abejas, permiten explorar con una visión diferente características específicas que diversifique y agreguen valor al empleo de la miel de abejas para beneficio del consumidor final. En el caso de la miel de abejas la rastreabilidad es un factor importante que permite ubicarla geográficamente para conocer la fuente botánica y las características climáticas de la región en donde las abejas colectaron el néctar para la elaboración de la miel.

A continuación, en la imagen 2 se presenta el diagrama de flujo que indica el procedimiento a seguir para la obtención de los espectros del COPAM para cada una de las diferentes muestras de miel de abejas europeas *Apis Mellifera*.

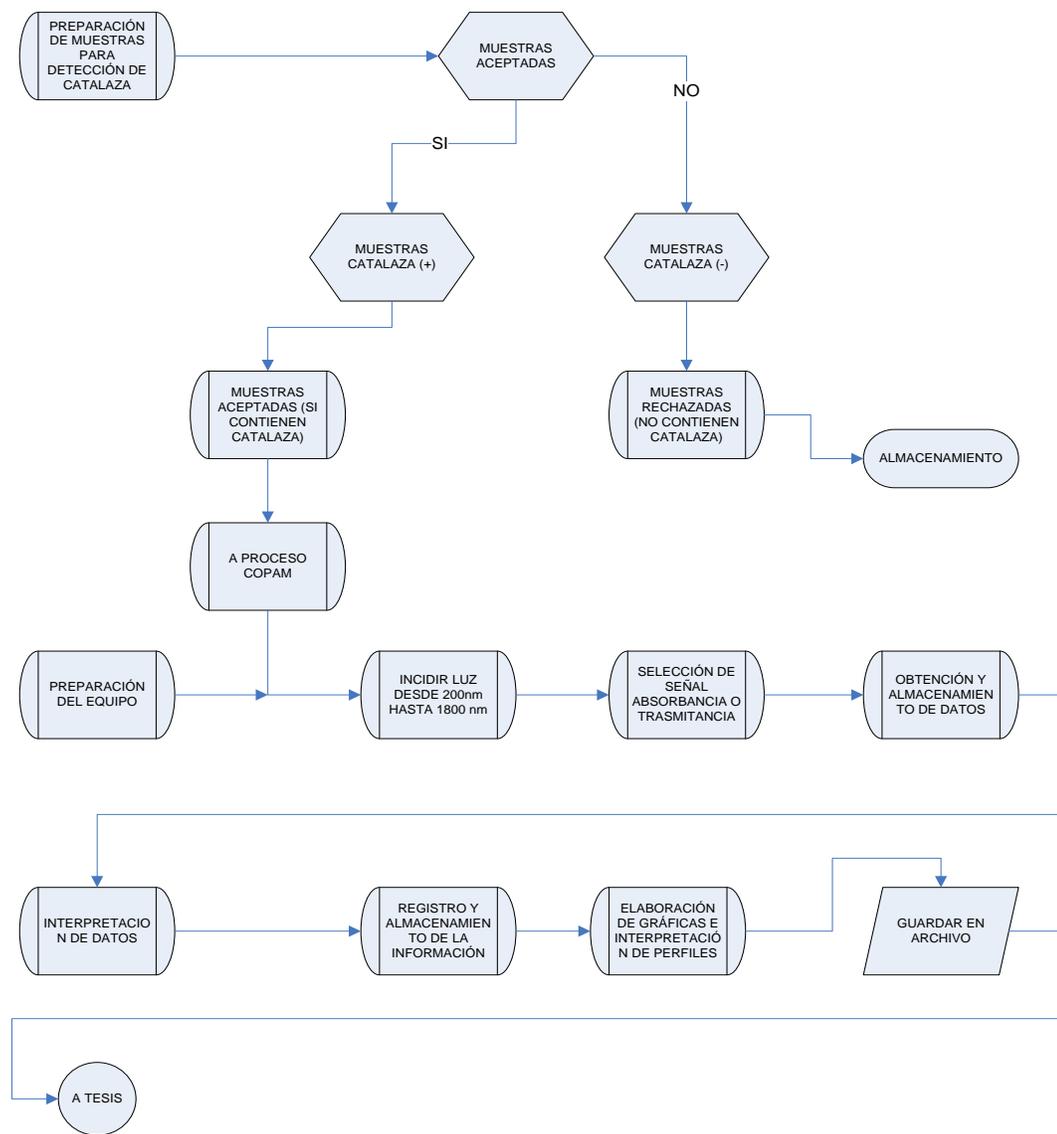


IMAGEN 3.- DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA CARACTERIZACIÓN ÓPTICA DE LAS MUESTRAS DE MIEL.



IMAGEN 4.- ARREGLO EXPERIMENTAL DEL EQUIPO A EMPLEAR PARA OBTENER LOS ESPECTROS DE LAS MUESTRAS DE MIEL “CATALASA +”. (Imagen tomada del manual de instalación y operación SpectraSuite, pág. 133, documento número: 000-20000-300-02-2011307).

El equipo permite obtener las señales de Intensidad, Absorbancia y Transmitancia (en el rango de 200nm hasta 1800nm) del espectro electromagnético generado por el paso de la luz a través de las diferentes muestras de miel, lo que proporciona la información que hace posible su rastreabilidad y detectar por comparación posibles adulteraciones en las muestras de miel estudiadas en el presente trabajo (Broca, 2014).

Capítulo 4.

4.1.- Resultados de los análisis para detección de enzima Catalasa en miel de abejas *Apis mellifera*.

Los análisis presentan los datos mediante: tablas, gráficas e imágenes, con la información de cada una de las evaluaciones y los comentarios referentes de los resultados obtenidos e inician a partir de la siguiente tabla número 6.

TABLA 6.- RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS PRACTICADOS AL PRIMER GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL OBTENIDAS EN LOS ESTADOS DE SINALOA Y CHIAPAS EN EL AÑO 2014.

DATOS DEL PRIMER GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS DIRECTAMENTE DE PRODUCTORES EN EL ESTADO DE SINALOA Y CHIAPAS 2014							
CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD % PESO	pH	CAT S/AGIT	CAT C/AGIT
MANG-CHIS	80.2	1.402	1.404	19.8	2.34	NO	NO
MANG-SINA	78.5	1.388	1.391	21.5	2.47	NO	NO
MANG-I	78.0	1.382	1.385	22.2	2.42	NO	NO
MANG-II	80.0	1.399	1.402	20.1	2.93	SI	SI-N10
MANU-KA	80.6	1.405	1.408	19.4	4.1	SI	SI-N9

Aunque el néctar de algunas mieles procede de la misma familia Botánica, no todas las especies pueden contener en el néctar de sus flores Catalasa como el caso del Mangle.

TABLA 7.- RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS PRACTICADOS AL TERCER GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL OBTENIDAS DIRECTAMENTE DE PRODUCTORES DEL ESTADO DE MORELOS EN EL AÑO 2015.

DATOS DEL PRIMER GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS DIRECTAMENTE DE PRODUCTORES EN EL ESTADO DE MORELOS 2015							
CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD % PESO	pH	CAT S/AGI	CAT C/AGIT
M-AGTE	85.3	1.432	1.435	14.9	3.87	SI	SI-N9
M-ISRR	84.2	1.428	1.431	15.8	2.79	SI	SI-N10
M-EDUA	82.5	1.416	1.419	17.8	2.82	SI	SI-N9
M-UNI	81.8	1.413	1.415	18.2	3.18	SI	SI-N9
M-TEPO	84	1.427	1.430	16.0	3.52	NO	NO

En este grupo de muestras de miel tienen origen Monofloral como la miel de Aguacate (M-AGTE) el resto de las muestras son Poli-floral.

TABLA 8.- RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS PRACTICADOS AL TERCER GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL OBTENIDAS EN EL XXIV CONGRESO INTERNACIONAL DE ACTUALIZACIÓN APÍCOLA CELEBRADO EN LA CIUDAD DE MORELIA, MICHOACÁN EN EL AÑO 2017.

DATOS DEL TERCER GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS EN EL XXIV CONGRESO INTERNACIONAL DE ACTUALIZACIÓN APÍCOLA CELEBRADO EN MORELIA, MICHOACAN 2017							
CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD % PESO	pH	CAT S/AGIT	CAT C/AGIT
M1	81.4	1.412	1.414	18.5	4.10	NO	NO
M2	80.8	1.406	1.409	19.2	4.24	NO	NO
M3	80.9	1.407	1.409	19.1	2.87	NO	NO
M4	79.6	1.402	1.403	20.0	2.87	NO	NO
M5	80.6	1.405	1.408	19.4	3.70	NO	NO
M6	81.0	1.408	1.410	19.0	3.59	NO	NO
M7	79.1	1.394	1.396	20.9	3.22	NO	NO
M8	80.7	1.406	1.408	19.3	3.28	SI	SI-N8
M9	79.6	1.398	1.400	20.3	3.88	NO	NO
M10	80.0	1.401	1.403	20.0	3.60	NO	NO
M11	80.2	1.416	1.419	17.8	3.91	SI	SI-N8
M12	81.9	1.414	1.417	18.0	3.73	NO	NO
M13	82.0	1.414	1.417	18.0	3.20	NO	NO
M14	80.6	1.405	1.407	19.4	3.15	NO	NO
M15	79.5	1.396	1.397	20.1	3.03	NO	NO
M16	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	NO	NO
M17	PEN	1.412	1.414	18.4	PEN	NO	NO
M18	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	NO	NO
M19	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	NO	NO
M20	81.2	1.409	1.411	18.8	2.85	SI	SI-N7

M21	81.0	1.408	1.410	19.0	2.79	NO	NO
M22	81.6	1.415	1.417	18.0	2.22	NO	NO
M23	82.4	1.418	1.420	17.6	3.02	NO	NO
M24	79.3	1.397	1.399	20.5	3.17	NO	NO

De los resultados que se obtuvieron de las 24 muestras de miel únicamente tres contienen Catalasa en función de la reacción al agregar Peróxido de Hidrógeno. Dos ellas, la M8 que es una miel multiflora (poli-floral) y la muestra M11, catalogada como miel de montaña (poli-floral) provienen del estado de Hidalgo y por último la muestra M20 también de fuente poli-floral procede del estado de Oaxaca.

La siguiente tabla, exhibe los resultados correspondientes a las muestras de miel obtenidas en el “Congreso Internacional de Actualización Apícola” realizado en Querétaro, 2018.

Tabla 9.- datos de los análisis realizados a las muestras de miel de apis mellifera, obtenidas en el xxv congreso internacional de actualización apícola, celebrado en la ciudad de querétaro, en el año 2018.

DATOS DEL CUARTO GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS EN EL XXV CONGRESO INTERNACIONAL DE ACTUALIZACIÓN APÍCOLA, CELEBRADO EN QUERETARO EN EL AÑO 2018							
CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD % PESO	pH	CAT S/AGIT	CAT C/AGIT
M1	78.8	1.392	1.393	21.2	2.05	NO	NO
M2	79.1	1.393	1.396	20.9	1.60	SI	SI-N10
M3	83.6	1.425	1.427	16.4	3.58	NO	NO
M4	84.7	1.431	1.435	15.1	3.89	NO	NO
M5	83.4	1.423	1.426	16.7	*	NO	NO
M7	80.1	1.401	1.403	19.9	3.83	NO	NO
M8	85.1	1.433	1.435	14.9	2.02	NO	NO
M13	85.3	1.434	1.437	14.7	2.96	NO	NO
M14	82.4	1.417	1.420	17.7	*	NO	NO
M15	84.8	1.431	1.434	15.2	*	NO	NO
M16	83.4	1.422	1.427	16.7	3.45	NO	NO
M17	84.6	1.431	1.433	15.3	2.98	NO	NO
M18	82.6	1.420	1.420	17.5	3.29	SI	SI-N9
M20	84.8	1.431	1.434	15.2	*	SI	SI-N10
M25	84.2	1.429	1.430	15.9	3.24	NO	NO
M26	83.1	1.422	1.425	16.9	2.30	NO	NO

En éste caso de las 16 muestras analizadas únicamente tres evidenciaron contener en su composición enzima Catalasa, dichas muestras son M2, M18 y M20.

* La muestra resultó escasa y no alcanzo para la inmersión del electrodo.

Nota 5: El número correspondiente para algunas muestras de miel no aparecen en la relación presentada en las tablas; ello obedece a que se ha privilegiado el orden asignado por los responsables del concurso organoléptico del Congreso Internacional de Actualización Apícola y así mantener la correlación con la fuente que suministró las muestras de miel.

A continuación, en la tabla 10 se muestran los resultados de los parámetros evaluados para las diferentes muestras de miel obtenidas en “El Congreso Internacional de Actualización Apícola celebrado en Ciudad Juárez, Chihuahua”.

Tabla 10.- Datos de las 11 muestras de miel obtenidas en el XXVI Congreso Internacional de Actualización Apícola, celebrado en Cd. Juárez, Chihuahua.

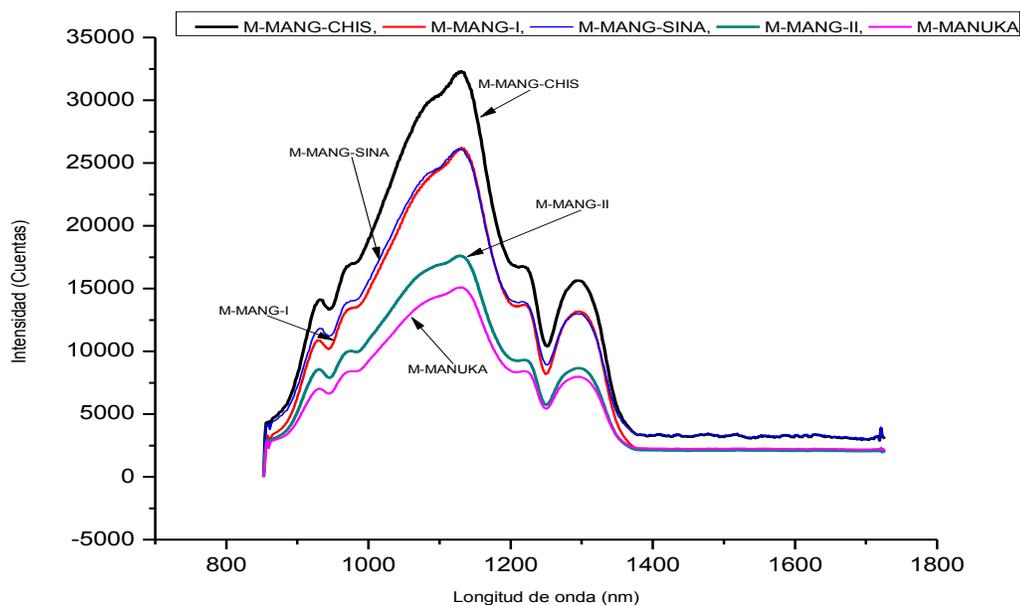
DATOS DEL CUARTO GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS EN EL XXVI CONGRESO INTERNACIONAL DE ACTUALIZACIÓN APÍCOLA CELEBRADO EN CD. JUÁREZ, CHIHUAHUA EN EL AÑO 2019							
CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD % PESO	pH	CAT S/AGIT	CAT C/AGIT
M1	81.5	1.412	1.413	18.5	4.39	SI-N8	SI-N10
M2	84.2	1.428	1.431	15.8	3.23	NO	NO
M3	81.7	1.413	1.415	18.3	2.06	SI-N8	SI-N8
M4	81.0	1.407	1.410	19.1	3.40	NO	SI-N10
M5	81.9	1.413	1.416	18.2	4.91	NO	SI-N9

M6	83.7	1.425	1.428	16.4	3.59	SI-N10	SI-N10
M7	83.9	1.427	1.429	16.1	3.91	SI-N8	SI-N8
M15	85.9	1.437	1.440	14.1	3.15	NO	NO
M16	83.8	1.426	1.428	16.3	3.32	NO	NO
M17	83.5	1.424	1.426	16.6	4.70	SI-N8	SI-N8
M18	81.6	1.412	1.415	18.4	3.30	SI-N8	SI-N8

De estas muestras podemos diferenciar dos grupos, en función de la manera en que reaccionan ante la presencia del Peróxido de Hidrógeno, el primero integrado por las muestras M3, M6, M7, M17 y M18, que reaccionan sin necesidad de agitación y el segundo grupo, las muestras de miel M4 y M5 que no manifiestan su contenido de Catalasa hasta que son agitadas.

4.2.- Los espectros electromagnéticos obtenidos para las muestras de miel “Catalasa +” (Catalasa positiva) mediante el “COPAM”

A partir de la siguiente gráfica 1, que exhibe el espectro electromagnético en el rango Óptico del Infrarrojo cercano (NIR) para la muestra de miel de Manuka y las muestras de miel de Mangle. En la zona costera del Océano Pacífico Mexicano coexisten las tres variedades de Mangle: Mangle blanco o Mangle Amarillo (**Laguncularia racemosa**), Mangle Rojo (**Rhizophora mangle**), Mangle Negro o Mangle prieto (**Avicennia germinans**).

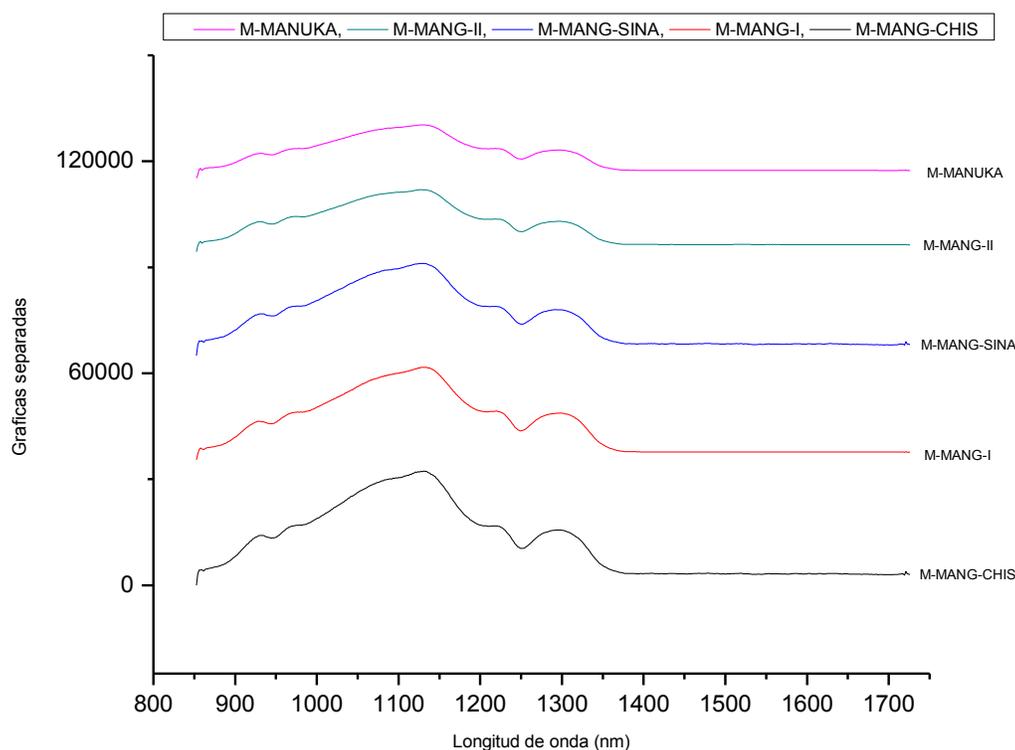


DATOS DE MIEL M-MANG-II Y MANUKA QUE CONTIENEN CATALASA							
CLAVE	SÓLIDOS	DENSIDAD D g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD AD	pH	CATALASA S/AGIT	CATALASA C/AGIT
M-MANG-II	80.0	1.399	1.402	20.1	2.93	SI	SI-N10

MANUKA	80.6	1.405	1.408	19.4	4.1	SI	SI-N9
--------	------	-------	-------	------	-----	----	-------

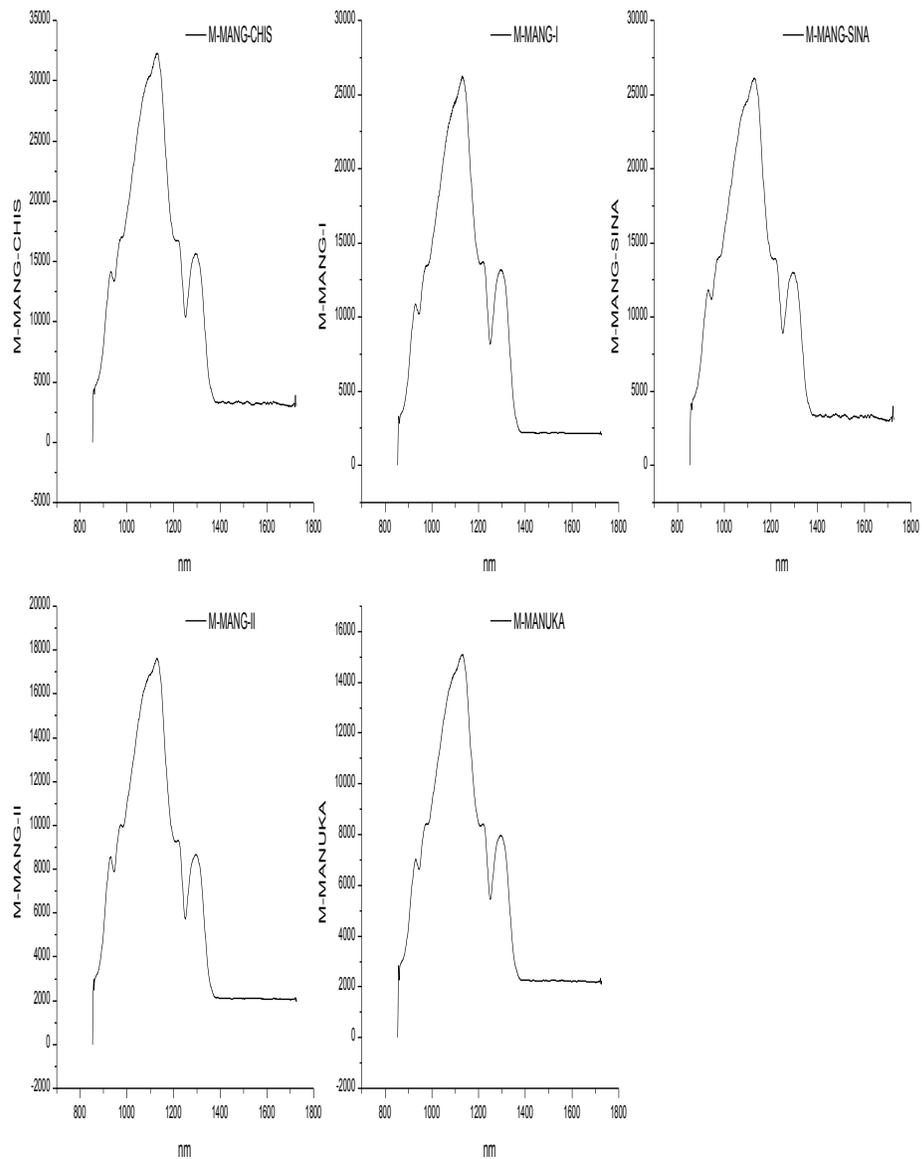
GRÁFICA 1.- PERFILES DE LOS ESPECTROS EN LA ZONA NIR DE MIELES DE MANGLE, MANUKA Y TABLA DE DATOS MIEL DE MANGLE M-MANG-II DEL PACÍFICO MEXICANO, SINALOA Y MIEL DE MANUKA DE NUEVA ZELANDA.

El espectro ubicado en la parte inferior de la gráfica pertenece a la muestra de miel de Manuka y la siguiente en orden ascendente pertenece a la muestra de miel Mangle M-MANG-II, esta muestra fue la primera de nuestro estudio que mostró contener enzima Catalasa, las demás muestras aunque poseen un perfil similar, no contienen Catalasa.



GRÁFICA 2.- GRÁFICAS SEPARADAS DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MANGLE ESTUDIADAS.

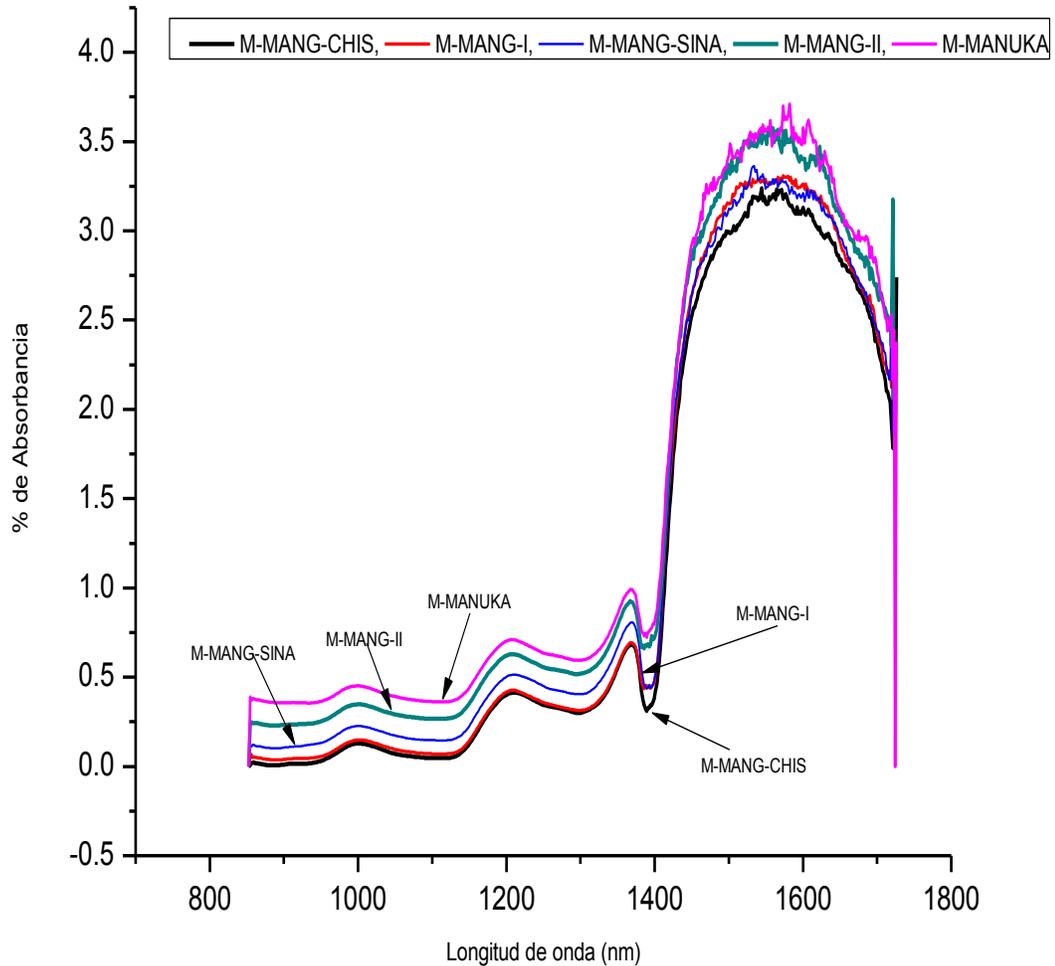
Aunque los espectros se aprecian con perfiles muy similares únicamente la muestra M-MANG-II y la muestra de miel de Manuka contienen enzima Catalasa (ver imagen 9).



GRÁFICA 3.- ESPECTROS INDEPENDIENTES EN LA REGIÓN NIR PARA LAS MUESTRAS DE MANGLE Y MANUKA.

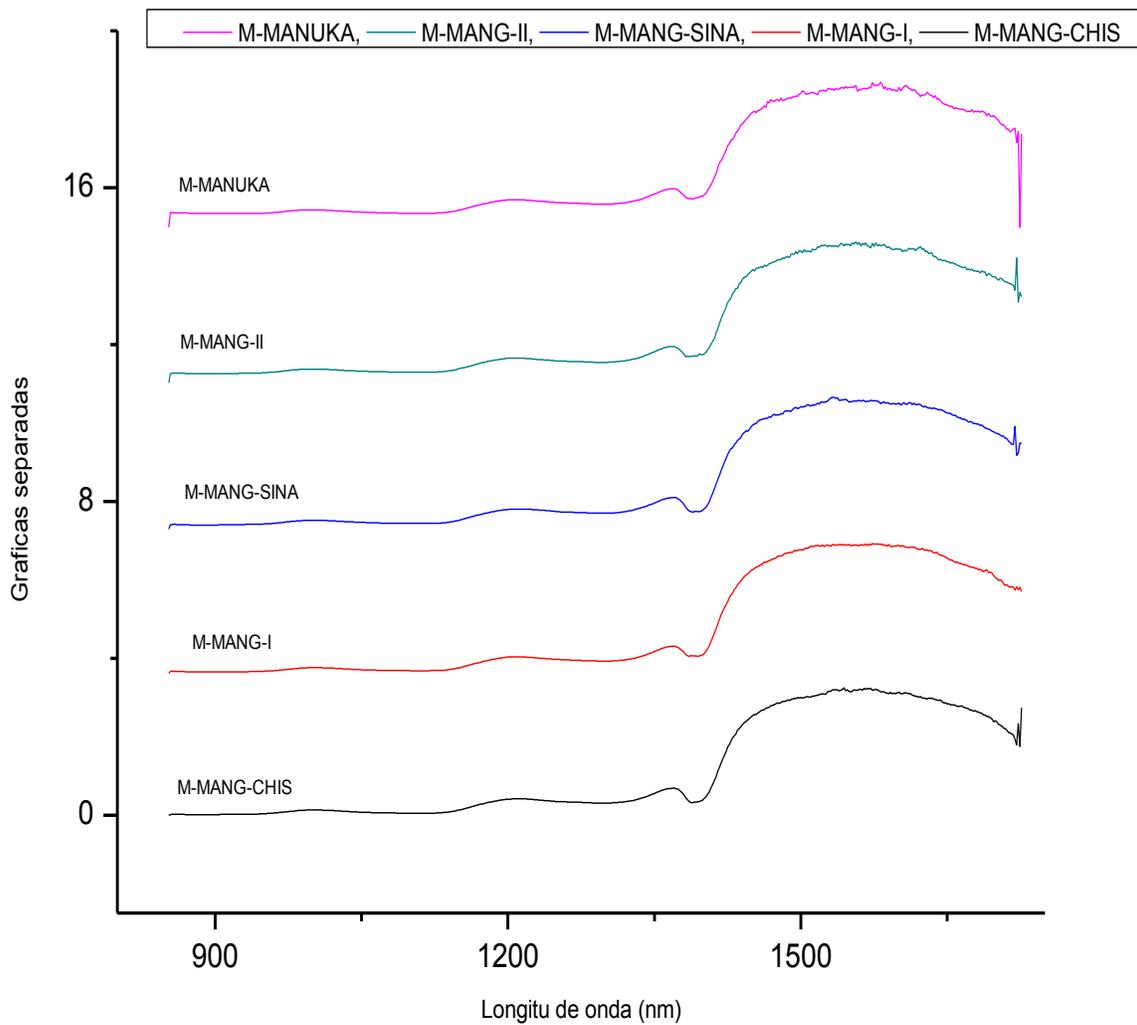
La muestra M-MANG-CHIS procede de la costa Pacífico de Chiapas, las muestras M-MANG-SIN, M-MANG-1 y M-MANG-II proceden del Pacífico de Sinaloa y la muestra MANUKA procede de Nueva Zelanda.

A continuación, se muestra el espectro de absorción NIR para estas mismas muestras de miel de mangle y manuka.



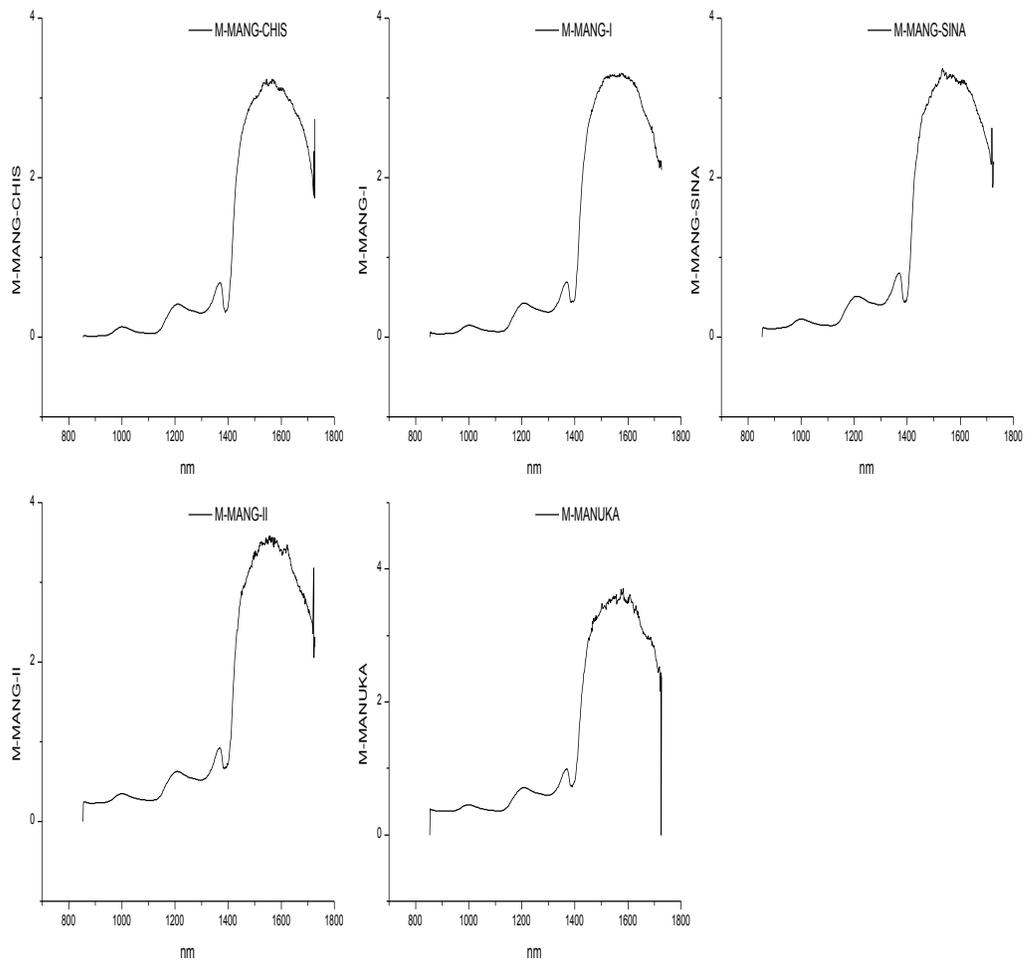
GRÁFICA 4.- ESPECTRO DE LA ABSORBANCIA EN LA REGIÓN NIR PARA LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y MANUKA.

En estas longitudes de onda la separación de las muestras de miel no es fácilmente apreciable por lo que, para tener una mejor visión, en la siguiente gráfica 5, se ha realizado la separación de los espectros de las muestras de miel



GRÁFICA 5.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA LAS PARA MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y MANUKA.

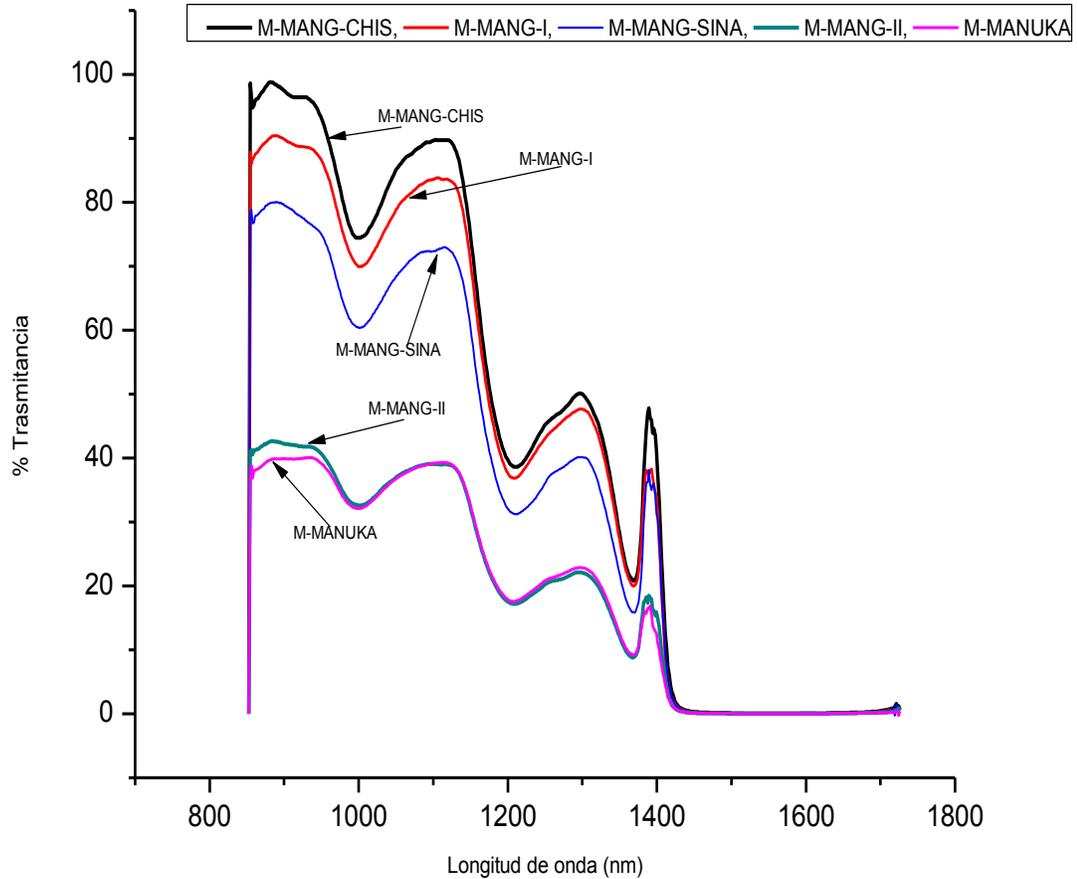
En la presente gráfica, es posible apreciar con mayor claridad cada uno de los perfiles del espectro generado por las diferentes muestras de miel y tanto las mieles de Mangle como la miel de Manuka presentan perfiles muy similares con una reducción de Absorbancia en la zona de los 1250nm a los 1400 n. aprox.



GRÁFICA 6.- GRÁFICA DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y LA MUESTRA DE MIEL DE MANUKA.

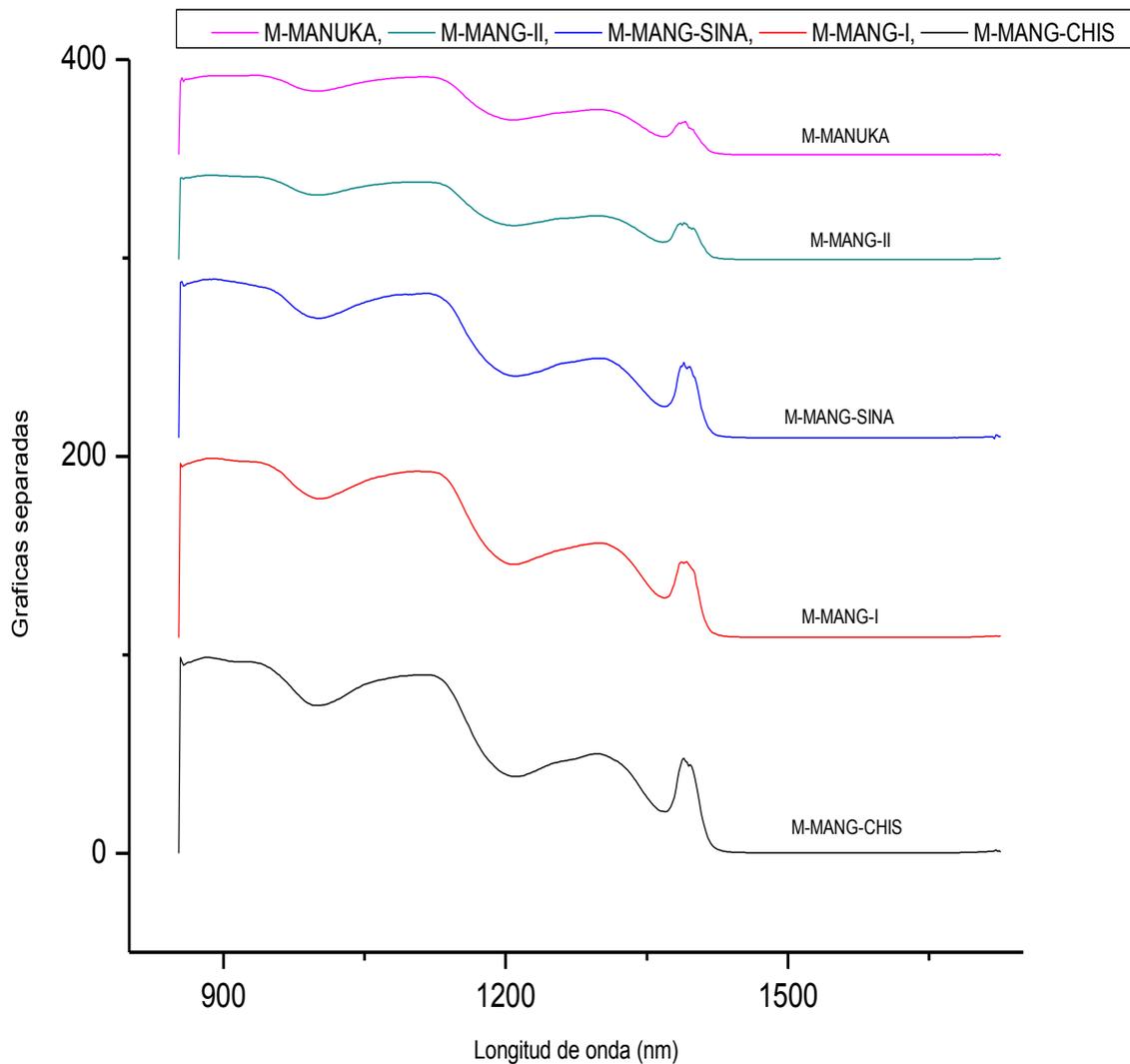
Los diferentes perfiles de Absorbancia para cada tipo de miel resultan consistentes con lo expuesto en la gráfica 5.

A continuación se muestran los espectros de transmitancia de las muestras de miel de Mangle.



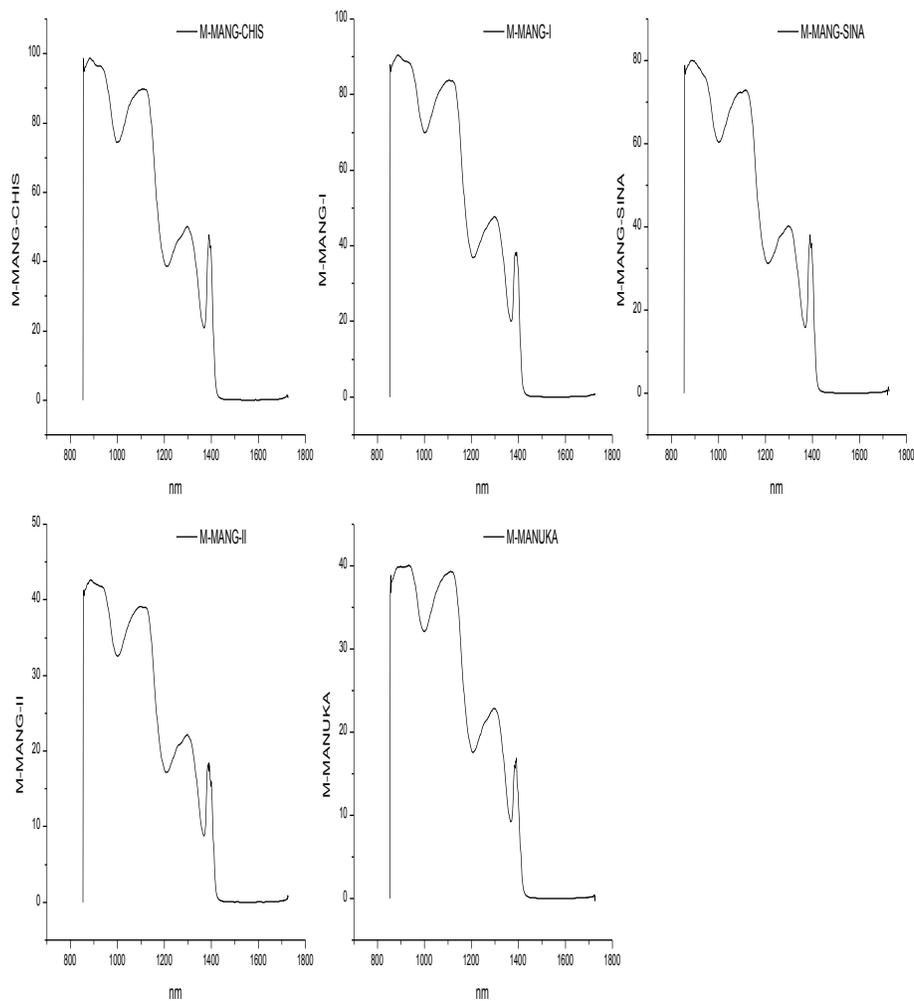
GRÁFICA 7.- ESPECTROS NIR DE TRANSMITANCIA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y MANUKA.

El perfil del espectro de transmitancia ubicado en la parte inferior de la figura corresponde a la muestra M-MANUKA que contiene la enzima Catalasa. En todos los casos, es decir, espectro, absorbancia y transmitancia, los perfiles son muy similares, aunque las muestras de miel manifiestan diferencias en su capacidad óptica.



GRÁFICA 8.- GRÁFICAS SEPARADAS DE TRASMISITANCIA NIR PARA LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y MANUKA.

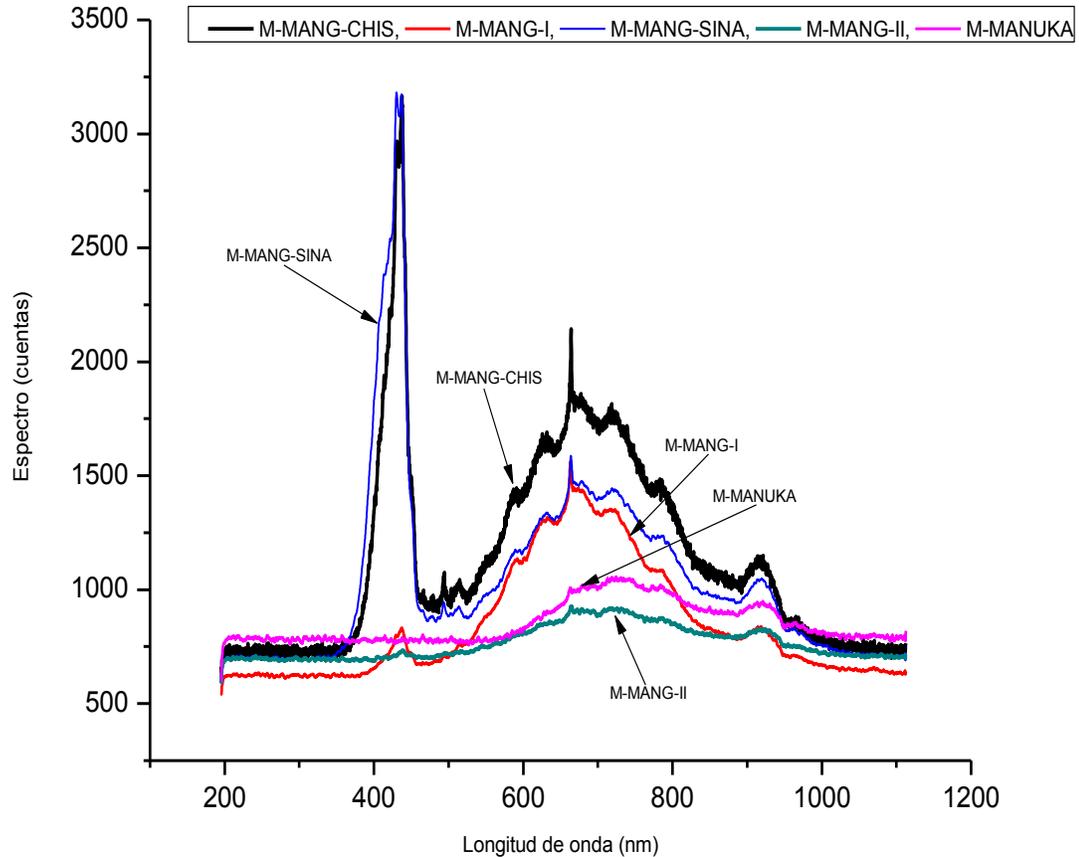
Los perfiles de los espectros son muy similares excepción del mostrado para las muestras de mangle M-MANG-II y M-MANUKA que presentan diferencia en el perfil de la línea de transmitancia más suave que las otras muestras, principalmente en la región de los 1300 a 1400 nm.



GRÁFICA 9.- ESPECTROS NIR POR SEPARADA PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y LA MUESTRA DE MIEL DE MANUKA.

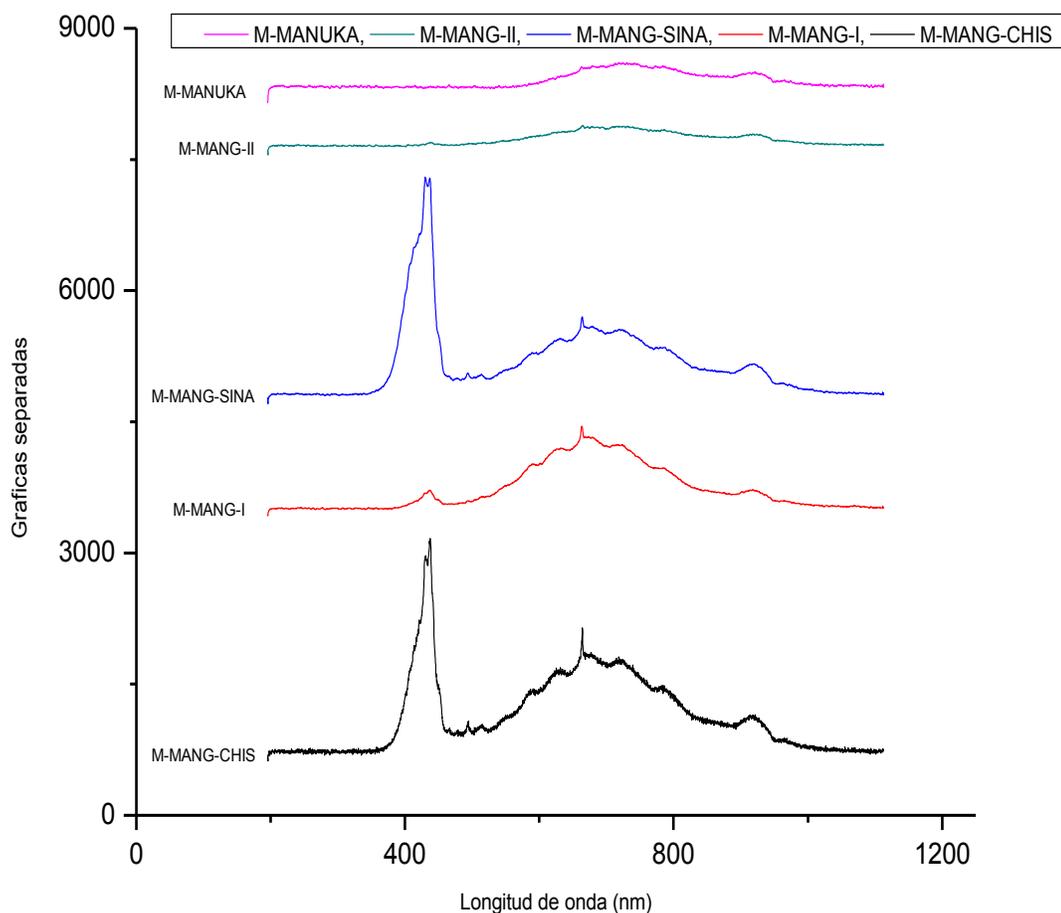
En esta gráfica no se aprecia gran diferencia en los perfiles de los espectros de trasmittancia entre cada una de las muestras, Pero siempre consideramos importante la evidencia de lo que se puede o no apreciar en cada tipo de espectro analizado.

Las gráficas expuestas a continuación, representan los perfiles de los espectros de las muestras de miel de Mangle en el rango UV-Vis.



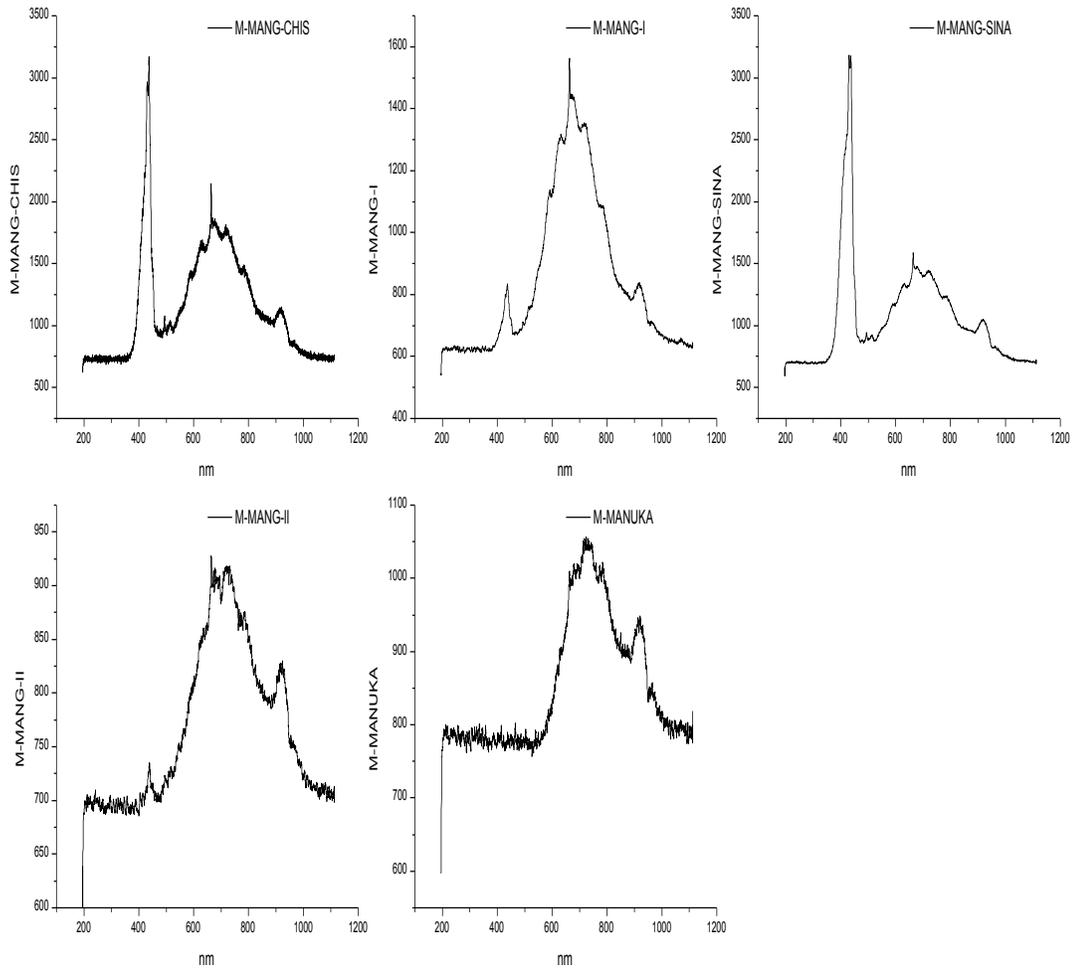
GRÁFICA 10.- ESPECTROS EN EL RANGO UV-VIS-NIR PARA LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE DEL OCÉANO PACÍFICO DE SINALOA, CHIAPAS Y LA MIEL DE MANUKA.

La gráfica 10, muestra que existe un acercamiento importante entre las muestras de miel M MANG-II y M-MANUKA aproximadamente en las longitudes de onda comprendida entre 550 nm y 600 nm M-MANG-II estas dos muestras de miel contiene enzima Catalasa.



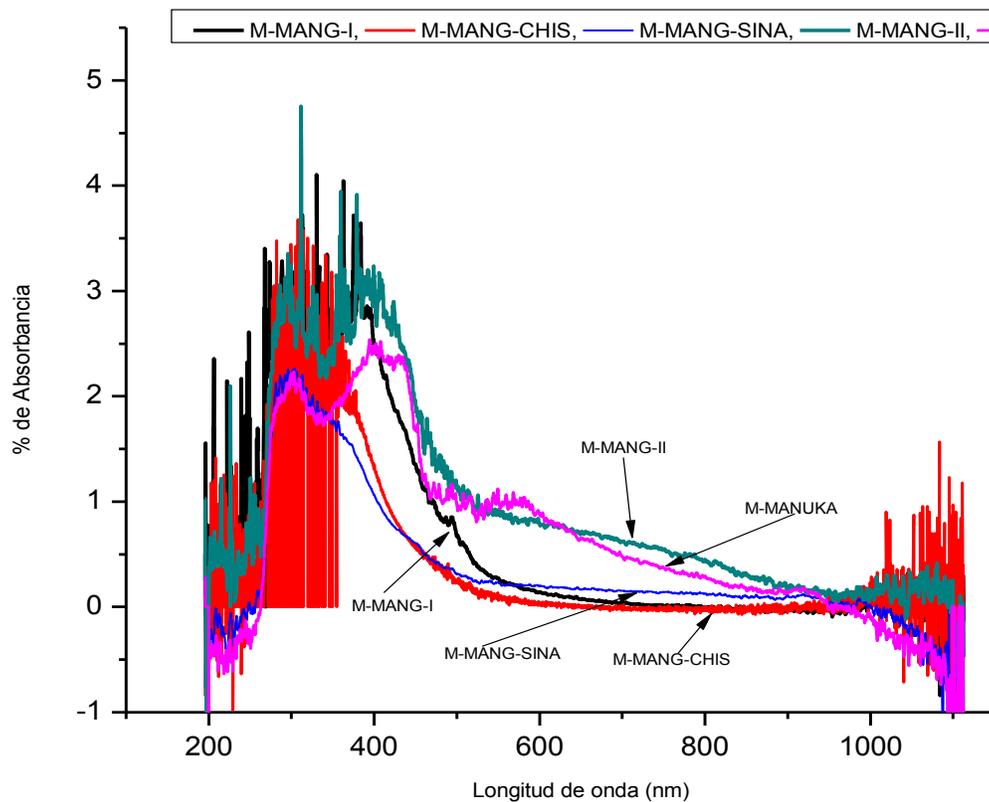
GRÁFICA 11.- GRÁFICAS SEPARADAS, EN LA REGIÓN UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y MANUKA.

Las muestras M-MANUKA y M-MANG-II, ubicadas en la parte superior de la gráfica son las muestras que contienen la enzima Catalasa y se puede apreciar que presentan un perfil de línea más suave en comparación con las otras muestras de miel de mangle estudiadas, además las muestras de miel que contienen Catalasa no presentan el pico ubicado en la longitud de onda de 400 nm aproximadamente.



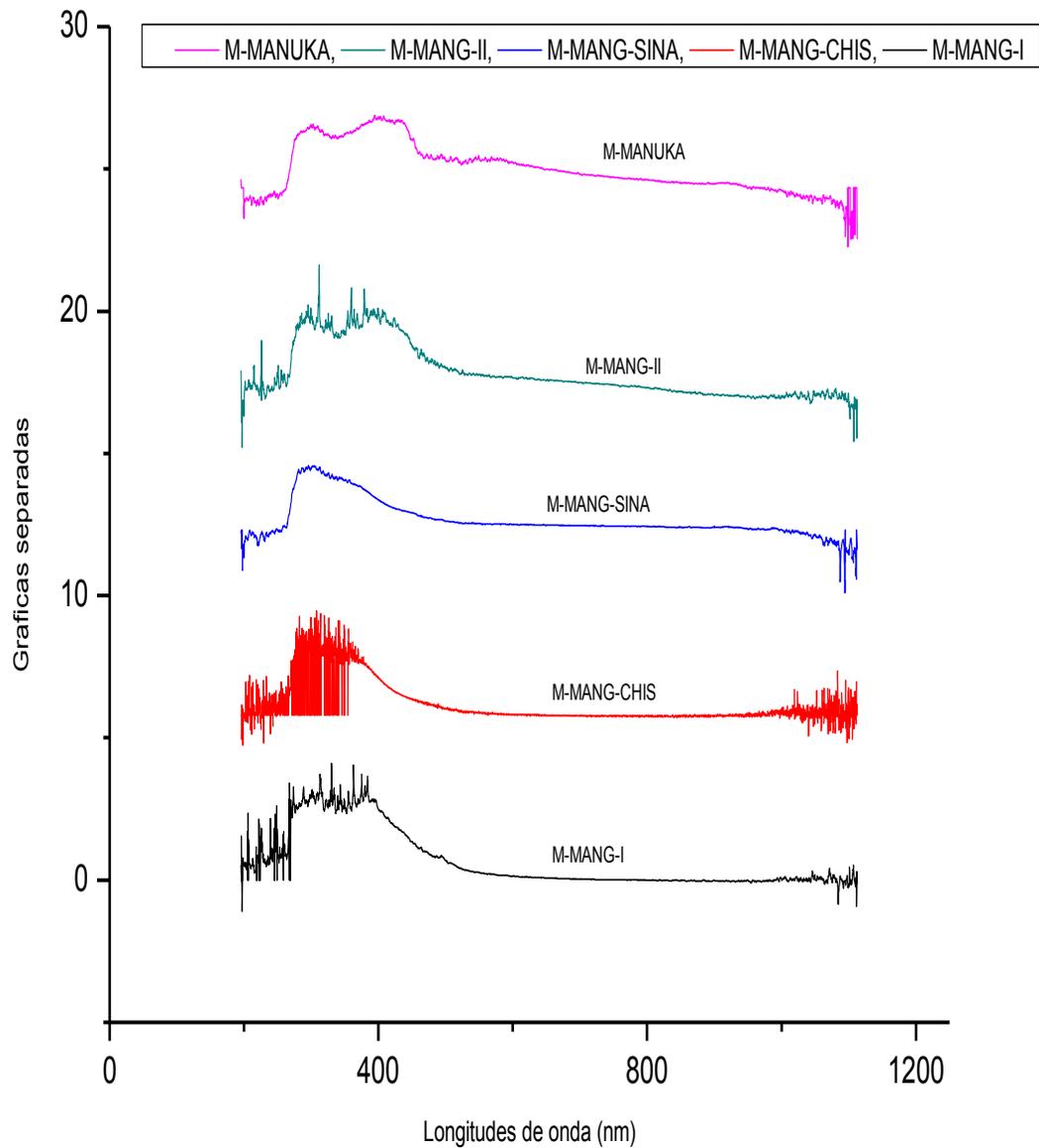
GRÁFICA 12.- Gráficas de perfiles para cada Espectro en zona UV-Vis para las muestras de miel de Mangle y Manuka. De la gráfica 12, los perfiles inferiores corresponden a la muestra de M-MANG-II y M-MANUKA, estas muestras presentan diferencia con respecto de las demás muestras, la primera es que no presenta un pico tan pronunciado en la longitud de onda en el rango comprendido entre los 400 nm y 500nm, pero sí presenta un pico más pronunciado que las otras muestras de miel de Mangle en la zona de los 900 nm a 1000 nm.

A continuación, se han colocado las gráficas que contienen los perfiles de Absorbancia UV-Vis de las muestras de miel de Mangle y la muestra de miel de Manuka.



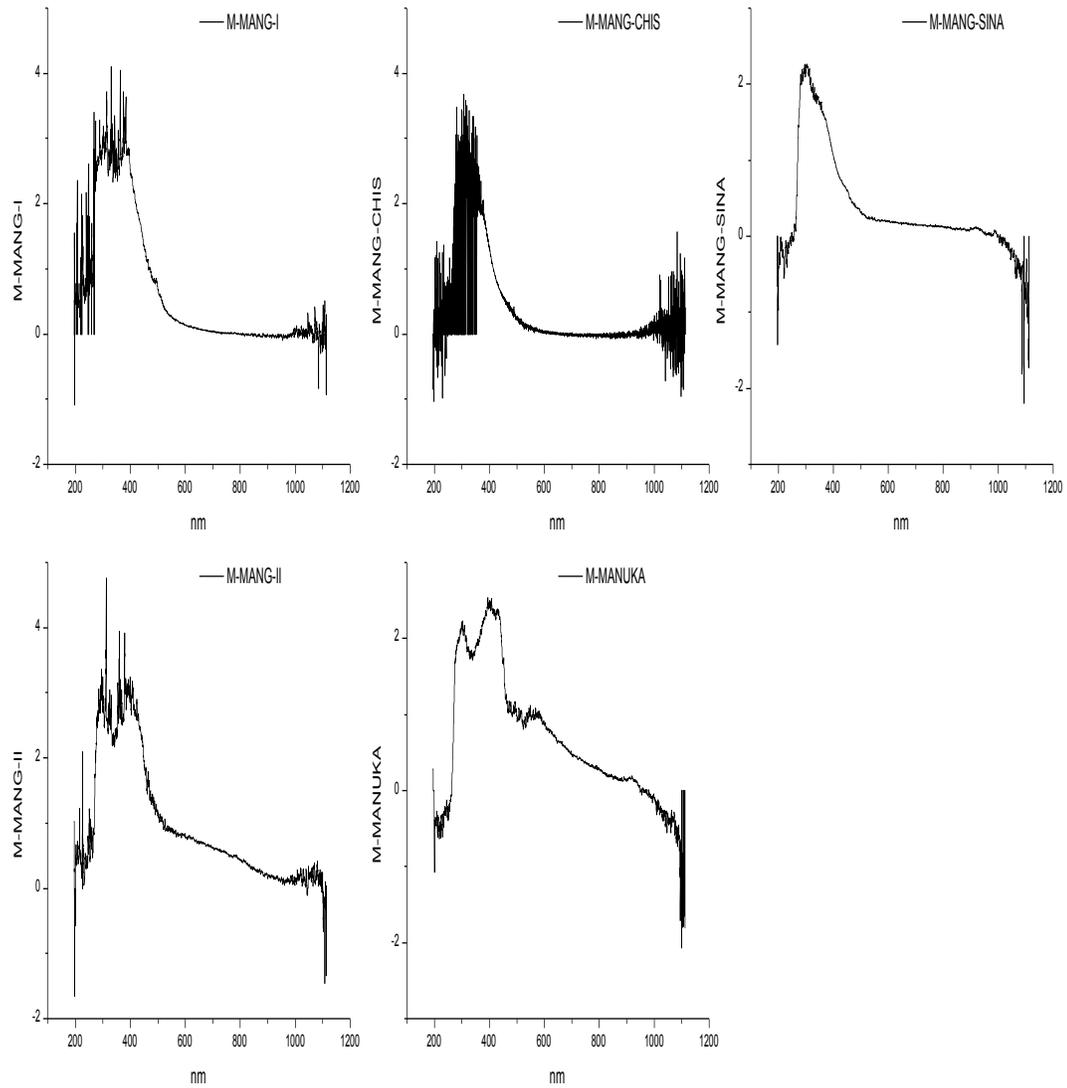
GRÁFICA 13.- GRÁFICAS DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y MANUKA EN EL RANGO UV-VIS

En la zona de los espectros superiores de la imagen, podemos observar intercesiones en algunas longitudes de onda para los perfiles de los espectros de las muestras de miel M-MANG-II y M-MANUKA.



GRÁFICA 14.- GRÁFICAS SEPARADAS PARA LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y LA MUESTRA DE MIEL DE MANUKA.

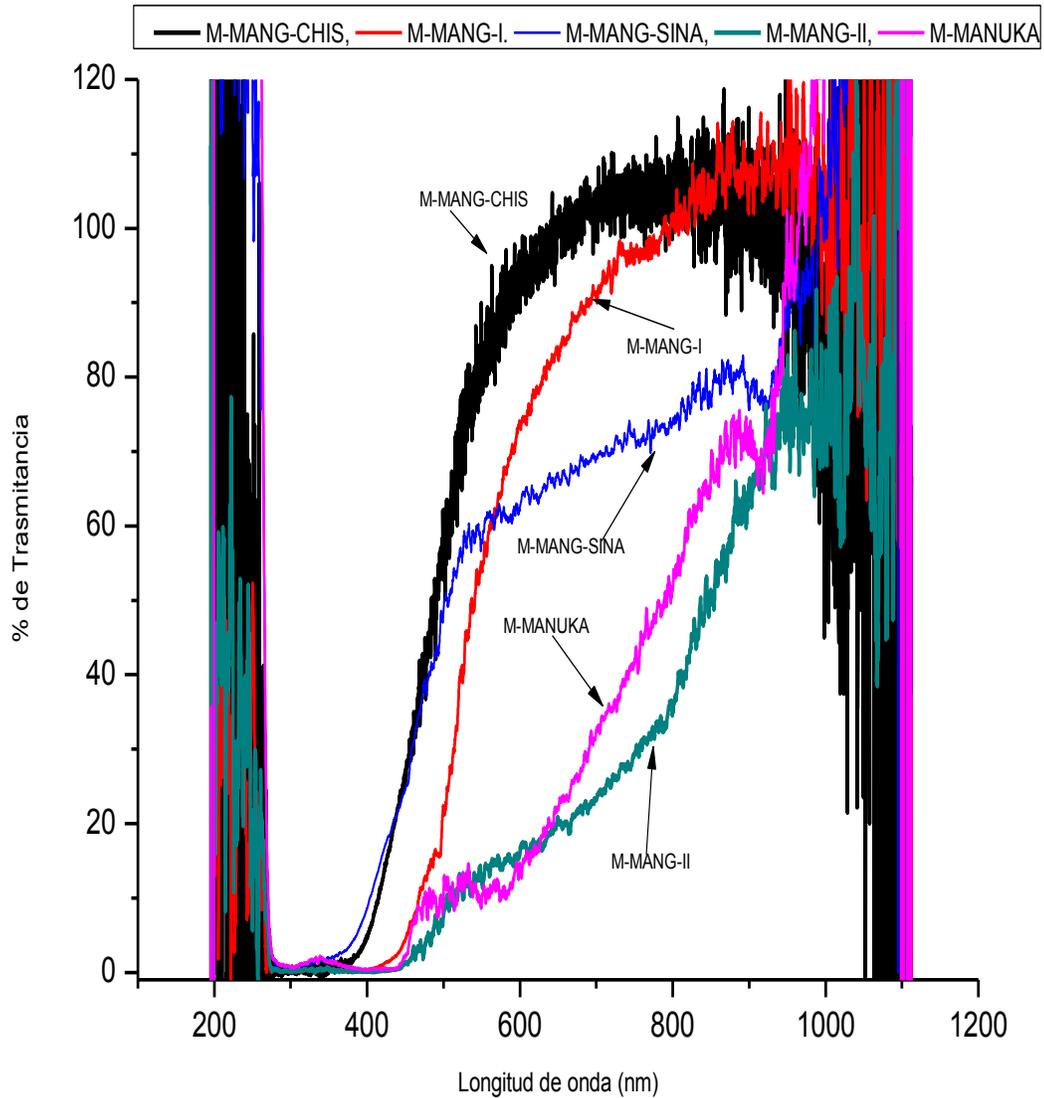
Aunque los perfiles presentan efectos de ruido en la zona de 200 nm a 400 nm se puede observar que el valle y la cresta son consistentes para todas muestras.



GRÁFICA 15.- GRÁFICAS INDIVIDUALES PARA CADA MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y DE MANUKA.

Las zonas de ruido intenso es indicador de cristales de miel. El perfil inferior derecho en la figura corresponde a la muestra de miel M-MANG-II que contiene Catalasa.

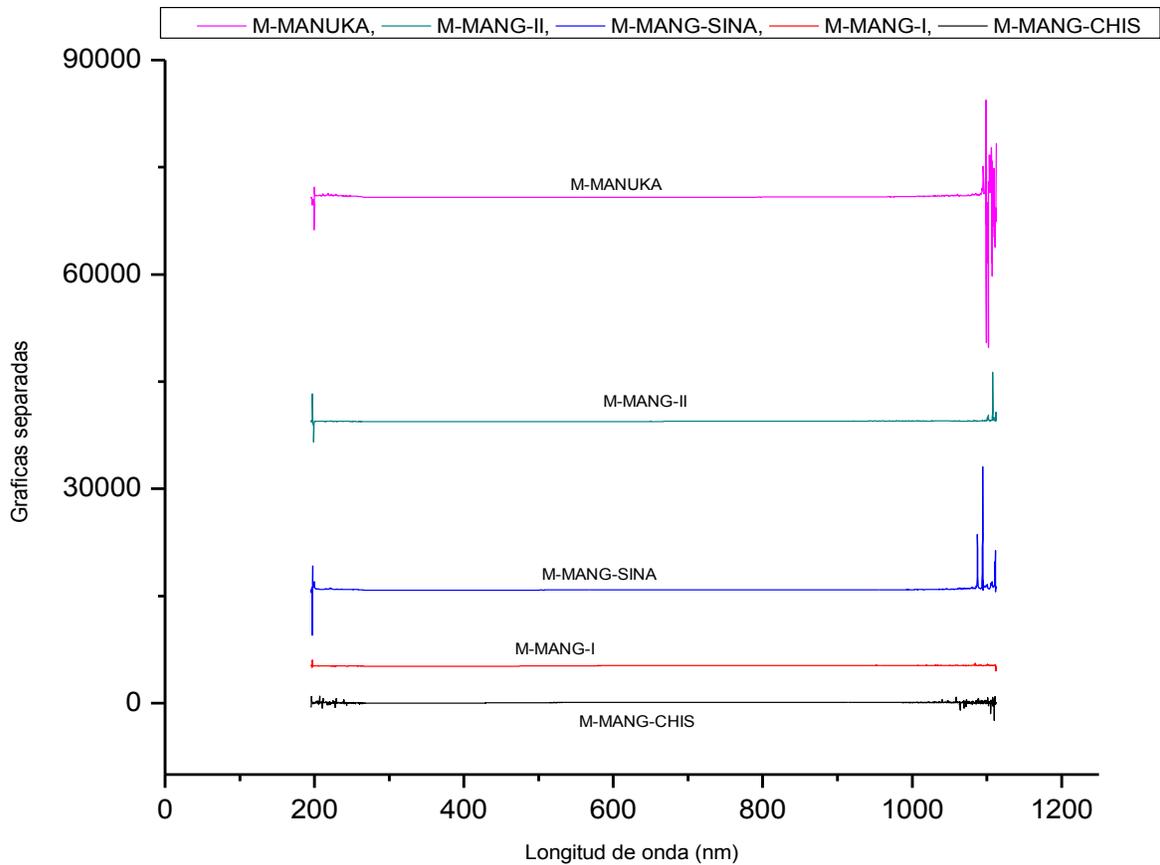
Las gráficas que se muestran a continuación muestran los perfiles de los espectros de Trasmittancia UV-Vis de las muestras de Miel de Mangle.



GRÁFICA 16.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRASMITTANCIA UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y DE LA MUESTRAS DE MIEL DE MANUKA.

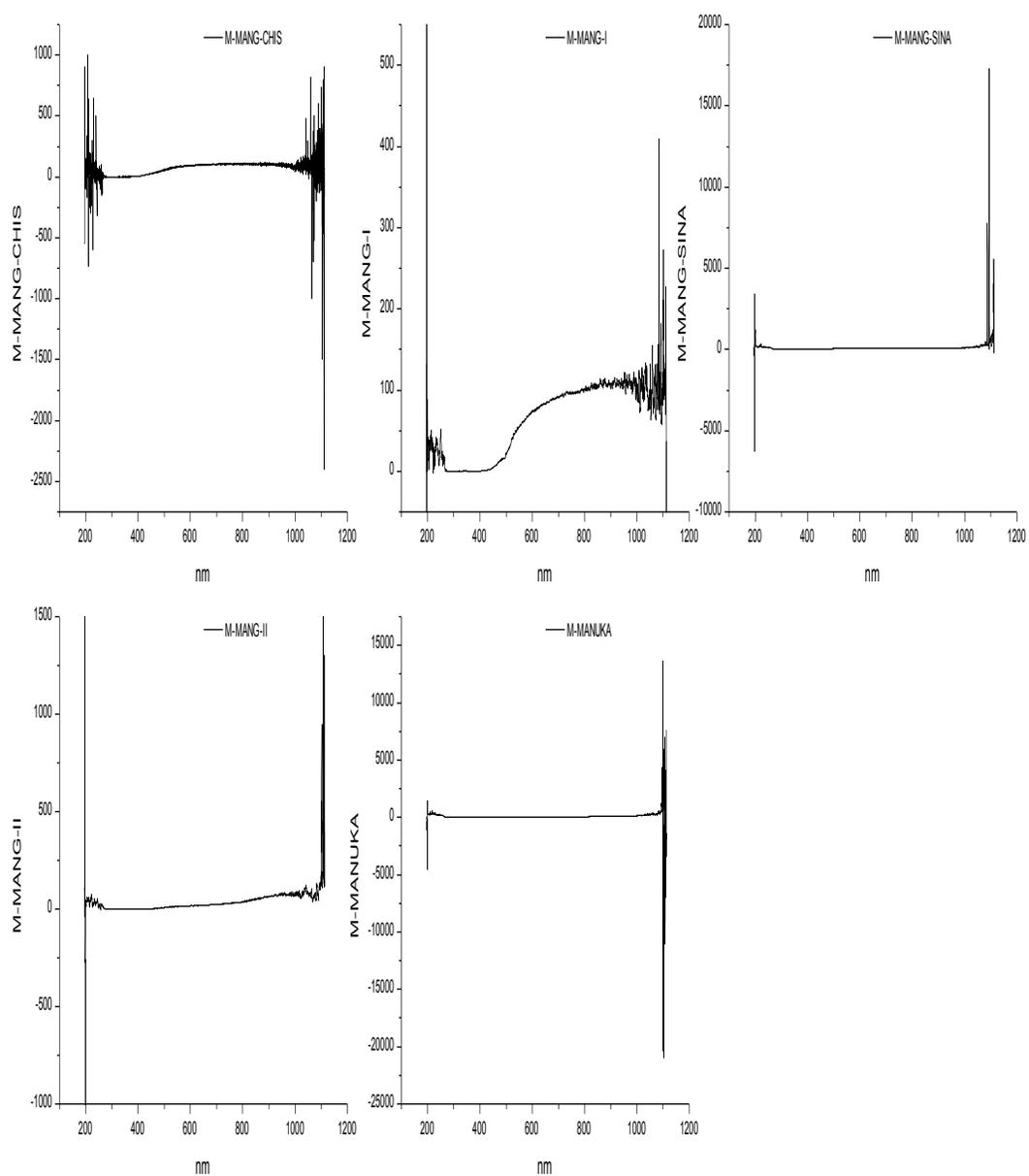
Las muestras que contienen Catalasa (M-MANG-II y M-MANUKA) presentan su línea de perfil del espectro de trasmittancia con una tendencia

de pendiente positiva en todo el rango de longitud de onda comprendido entre los 650 nm y 850 nm en esta figura.



GRÁFICA 17.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRANSMITANCIA UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE Y LA MUESTRA DE MIEL DE MANUKA.

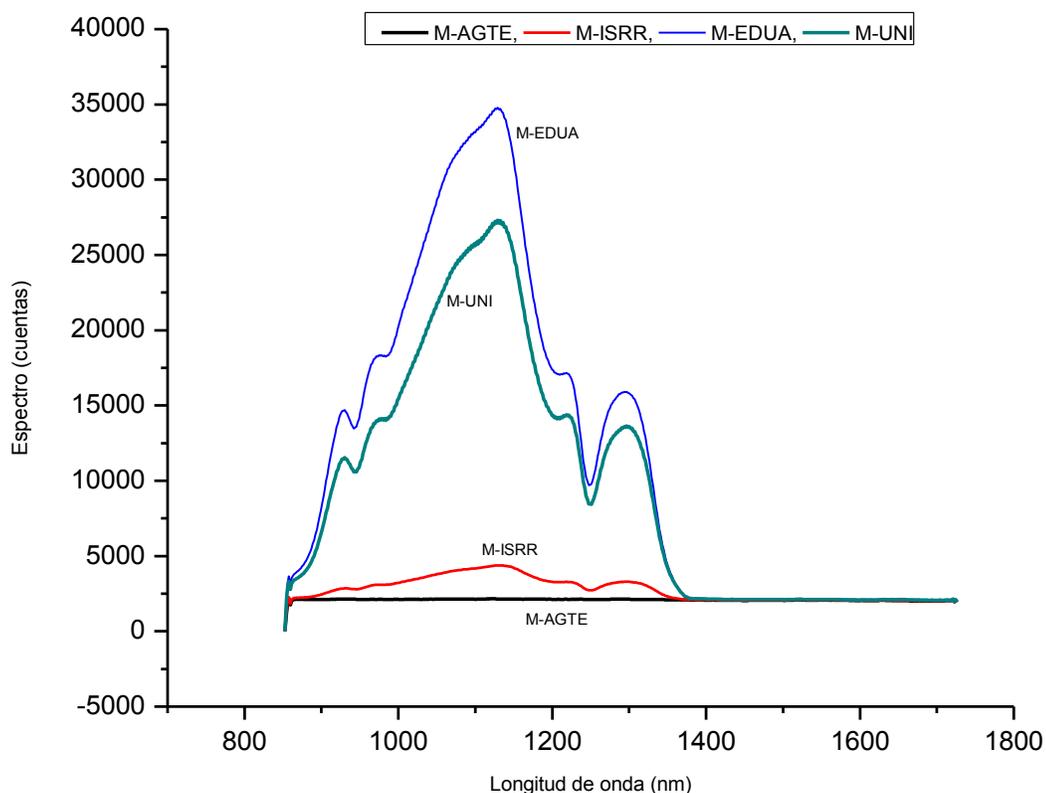
En esta gráfica como en algunas otras la información obtenida no permite una interpretación interesante, se ha decidido dejar en la Tesis estas gráficas para que se tenga evidencia de que las muestras de miel han sido evaluadas en todo el rango de UV-Vis-NIR.



GRÁFICA 18.- GRÁFICAS DE PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRASMISIÓN PARA CADA MUESTRA DE MIEL DE MANGLE Y DE LA MIEL DE MANUKA, EN LA ZONA UV-Vis.

En este caso, gráfica 18, es la única miel que presenta diferencia con respecto de las otras muestras es la muestra M-MANG-I

A partir de la siguiente gráfica (21) se muestran los perfiles de los espectros ópticos de las muestras de miel de abejas europeas *Apis Mellifera* correspondientes al Segundo grupo y que se obtuvieron en el estado de Morelos directamente de productores de la región.



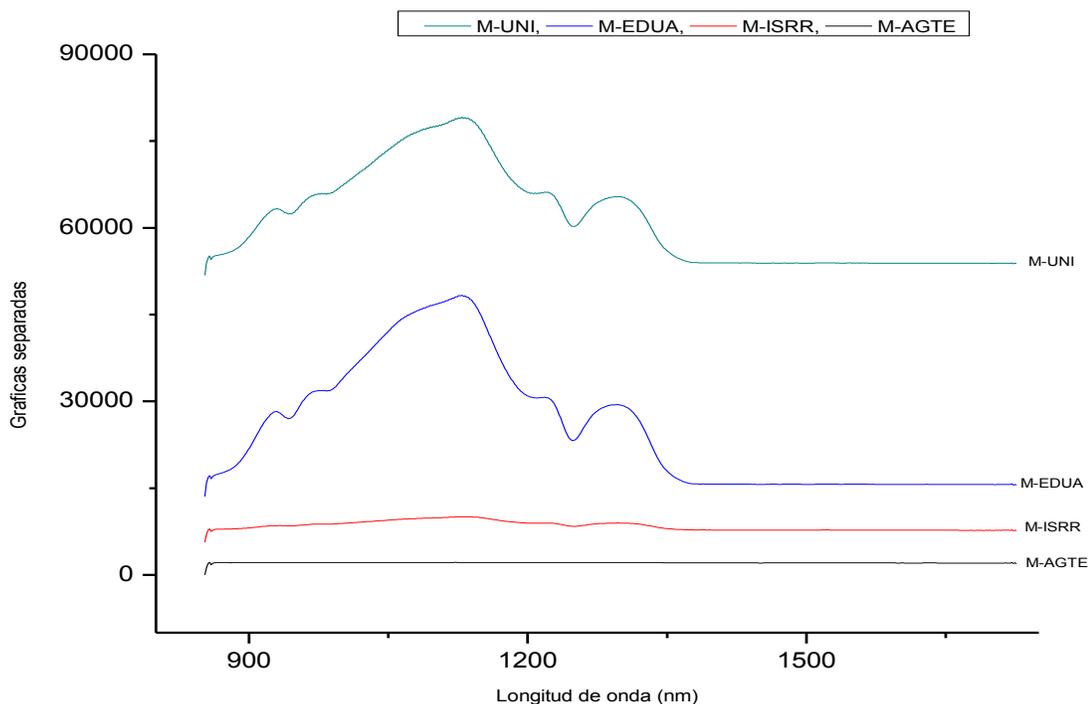
DATOS DEL PRIMER GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS DIRECTAMENTE DE PRODUCTORES DEL EDO. DE MORELOS 2015							
CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD % PESO	pH	CAT S/AGIT	CAT C/AGIT
M-AGTE	85.3	1.432	1.435	14.9	3.87	SI	SI-N9
M-ISRR	84.2	1.428	1.431	15.8	2.79	SI	SI-N10

M-EDUA	82.5	1.416	1.419	17.8	2.82	SI	SI-N9
M-UNI	81.8	1.413	1.415	18.2	3.18	SI	SI-N9

GRÁFICA 19.-PERFILES DE LOS ESPECTROS EN LA ZONA NIR Y TABLA DE DATOS DE LAS MUESTRAS DE MIEL QUE CONTIENEN CATALASA PROCEDENTES DEL ESTADO DE MORELOS.

La muestra M-AGTE no muestra ningún relieve en su perfil, esto es característico de muestras de miel totalmente cristalizada.

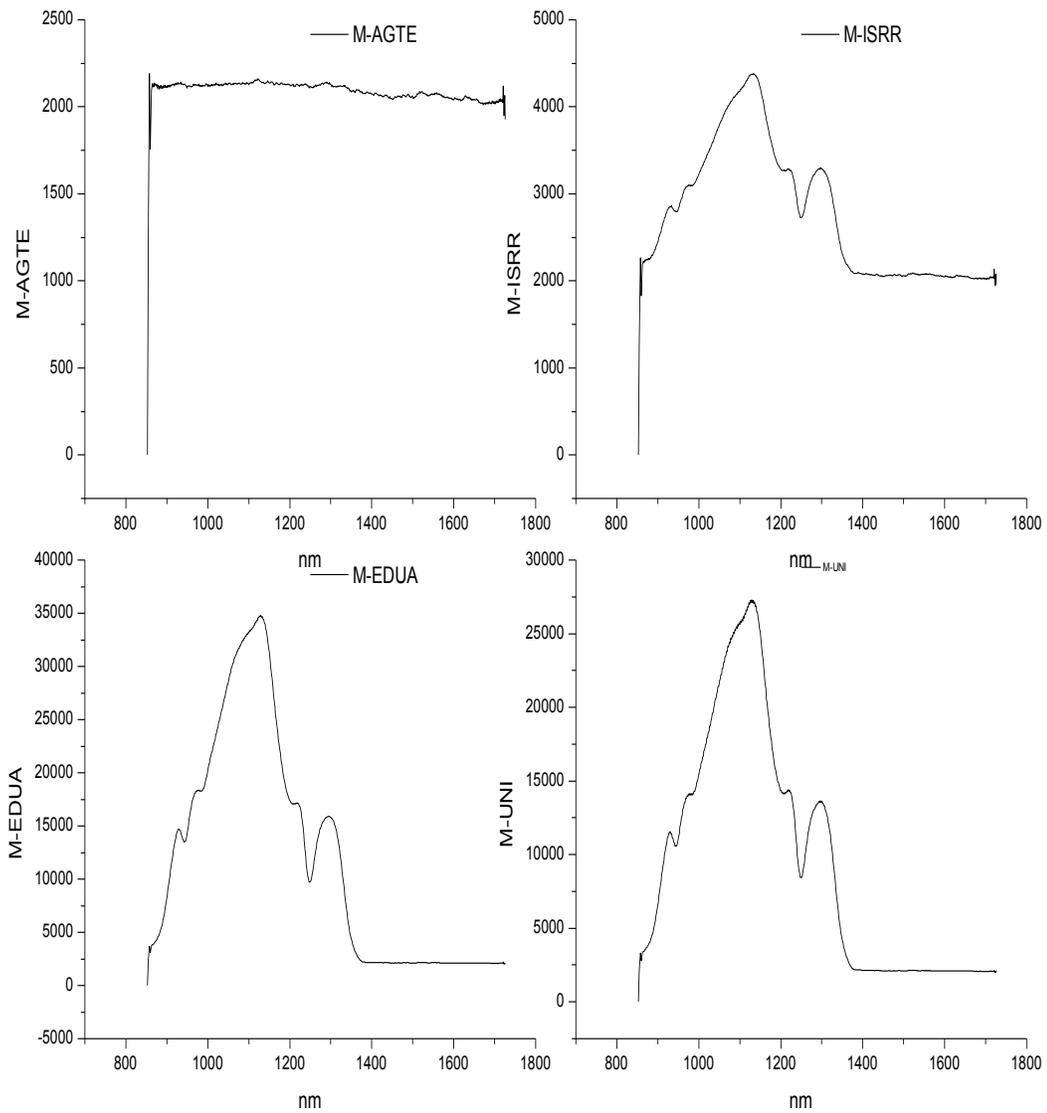
NOTA: Únicamente se muestran los perfiles de los espectros de las muestras de miel que contienen enzima Catalasa.



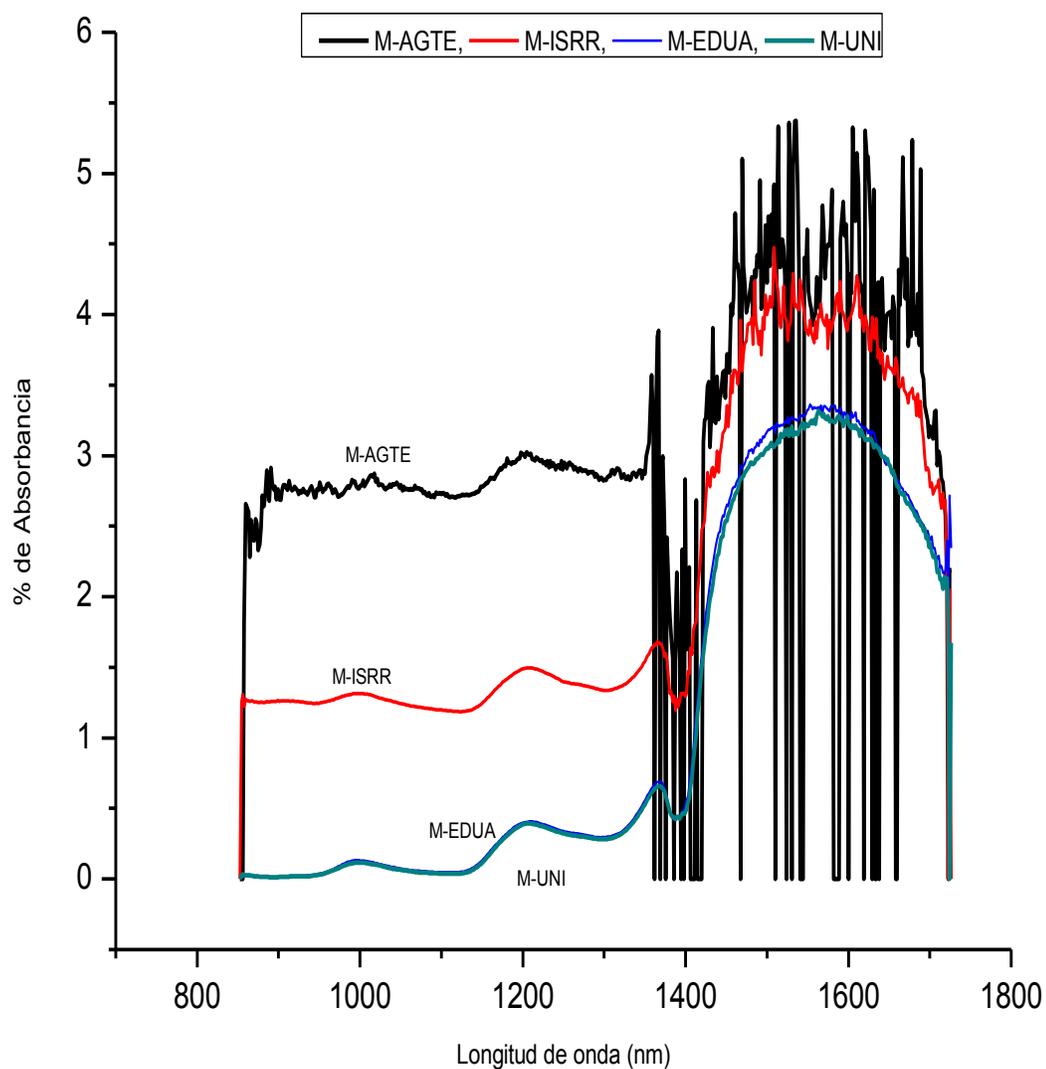
GRÁFICA 20.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS NIR PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DEL ESTADO DE MORELOS.

NOTA: Todas las muestras que aparecen en la gráfica contienen enzima Catalasa.

Las muestras M-UNI y M-EDUA pertenecen a mieles totalmente líquidas, la muestra M-ISRR presenta dos fases, es decir líquida y cristales, mientras que la muestra M-AGTE está totalmente cristalizada.

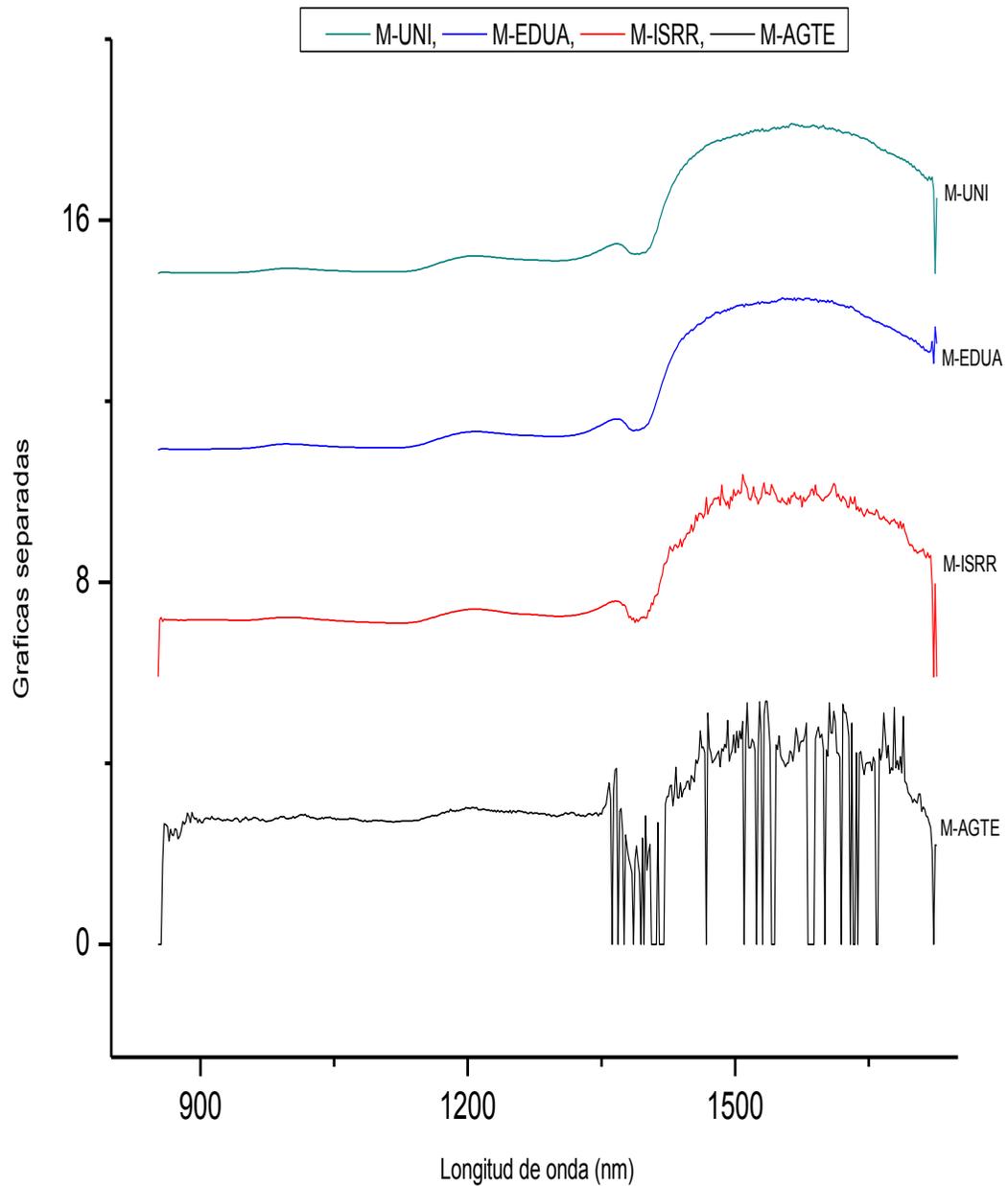


GRÁFICA 21.- PERFILES DE LOS ESPECTROS NIR PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.



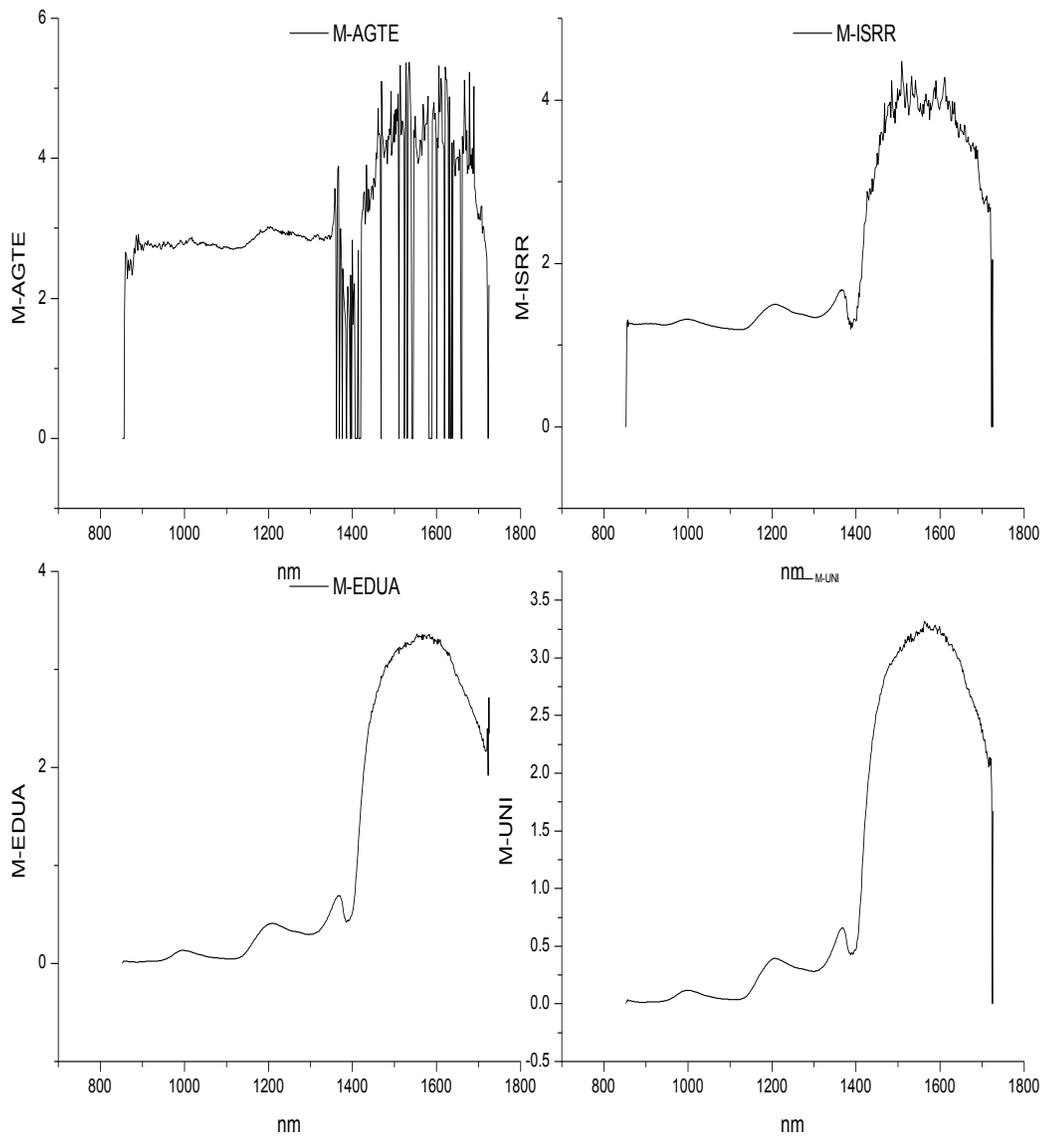
GRÁFICA 22.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA NIR PARA LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.

En esta gráfica es posible diferenciar el espectro de absorbancia de la muestra de miel M-AGTE que en la figura anterior aparece como una línea recta aunque a partir de los 1350 nm aprox. Se manifiesta el ruido generado por los cristales de miel.



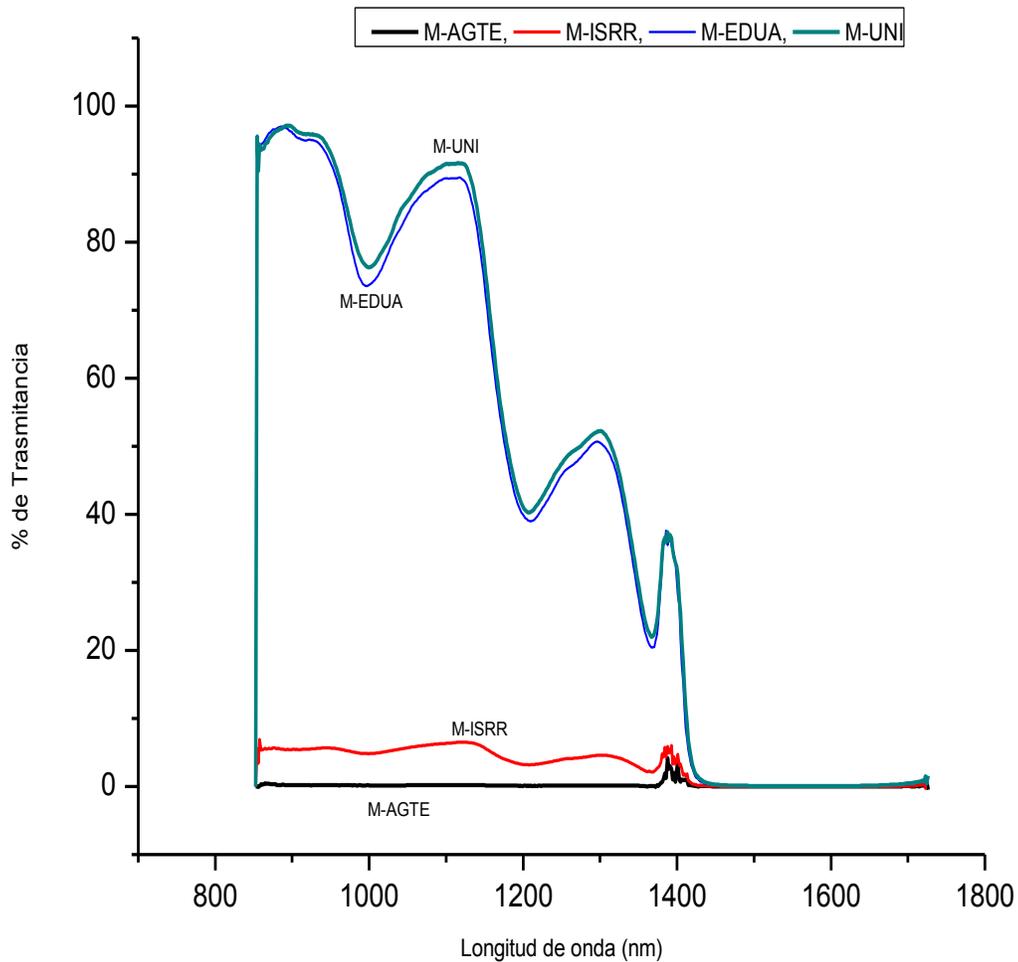
GRÁFICA 23.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE ABSORBANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.

Aquí también es posible apreciar el efecto del ruido generado por los cristales de miel en las muestras M-ISRR y M-AGTE.



GRÁFICA 24.- PERFILES DE LOS ESPECTROS NIR DE ABSORBANCIA PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.

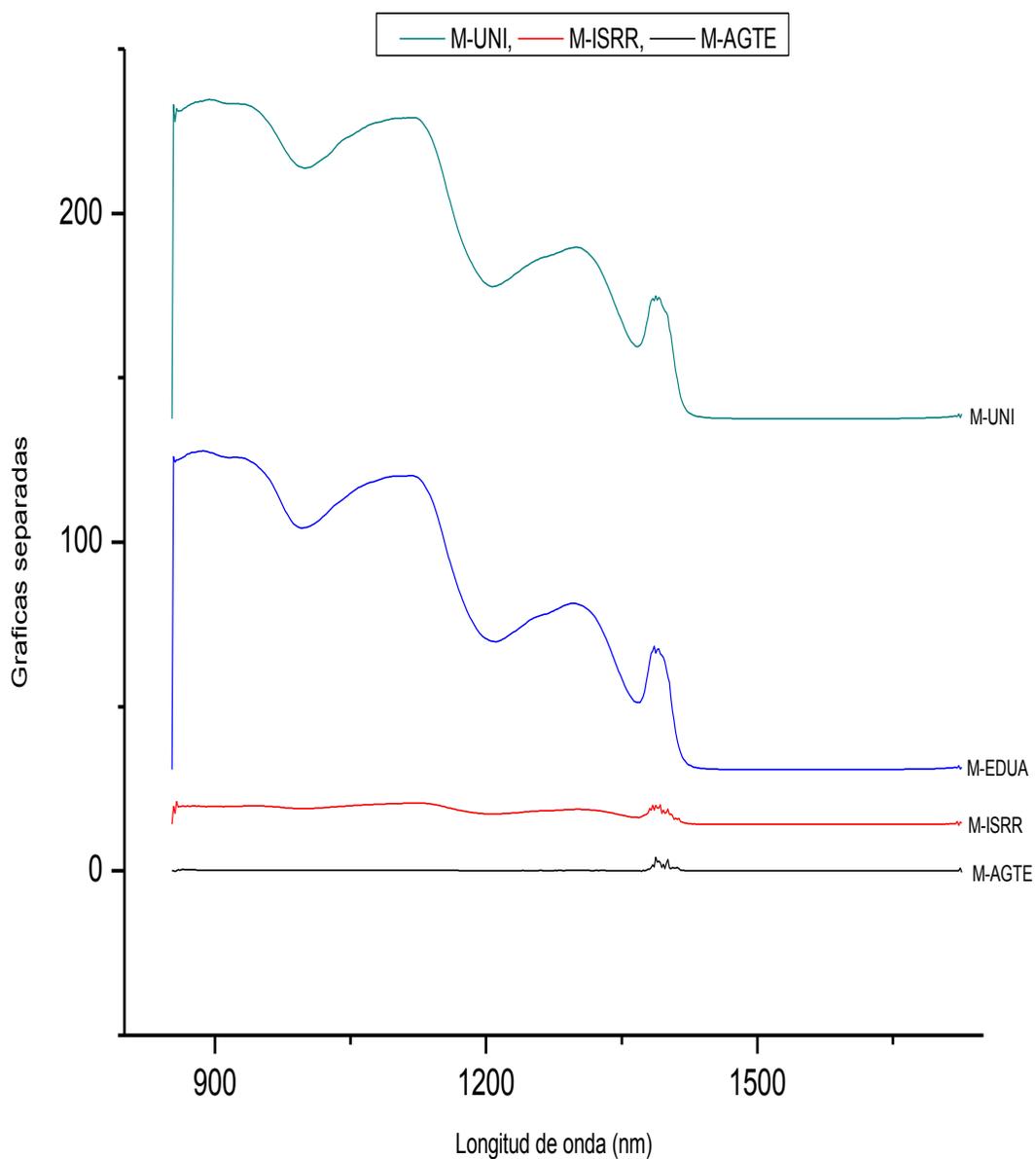
Observando a detalle aunque las muestras de miel pertenecen al estado de Morelos cada una de ellas muestra un perfil de espectro de absorbancia particular.



GRÁFICA 25.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRANSMITANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DEL ESTADO DE MORELOS.

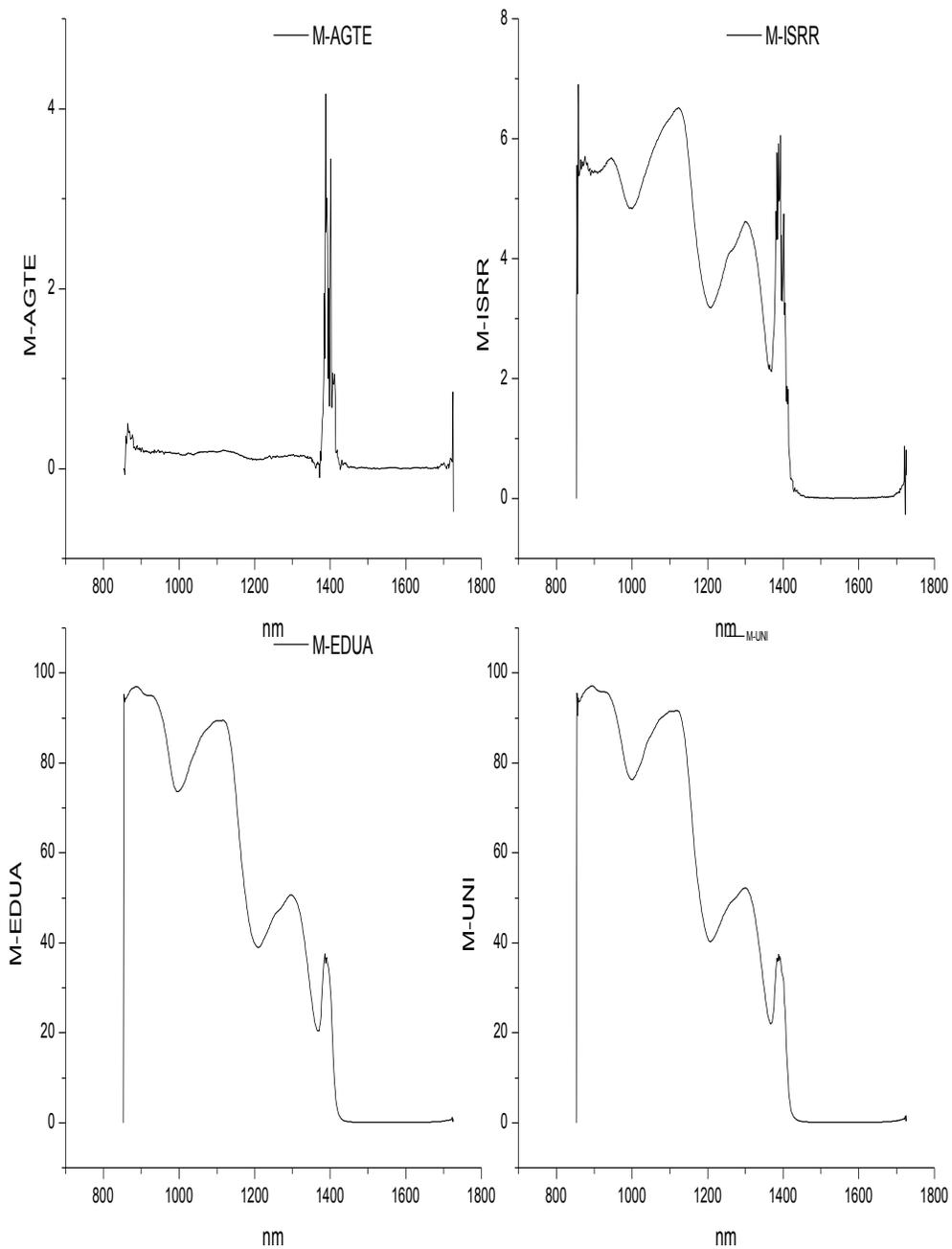
Todas las muestras de miel de la figura 27 presentan un incremento en el porcentaje de Transmitancia en la zona de los 1400 nm.

No podemos considerar que éste incremento en la Transmitancia obedezca al contenido de Catalasa porque en el caso de las muestras de miel de Mangle se pudo observar que aunque la mayoría no contienen Catalasa se manifiesta dicho incremento.



GRÁFICA 26.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS ESPECTROS DE TRANSMITANCIA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS

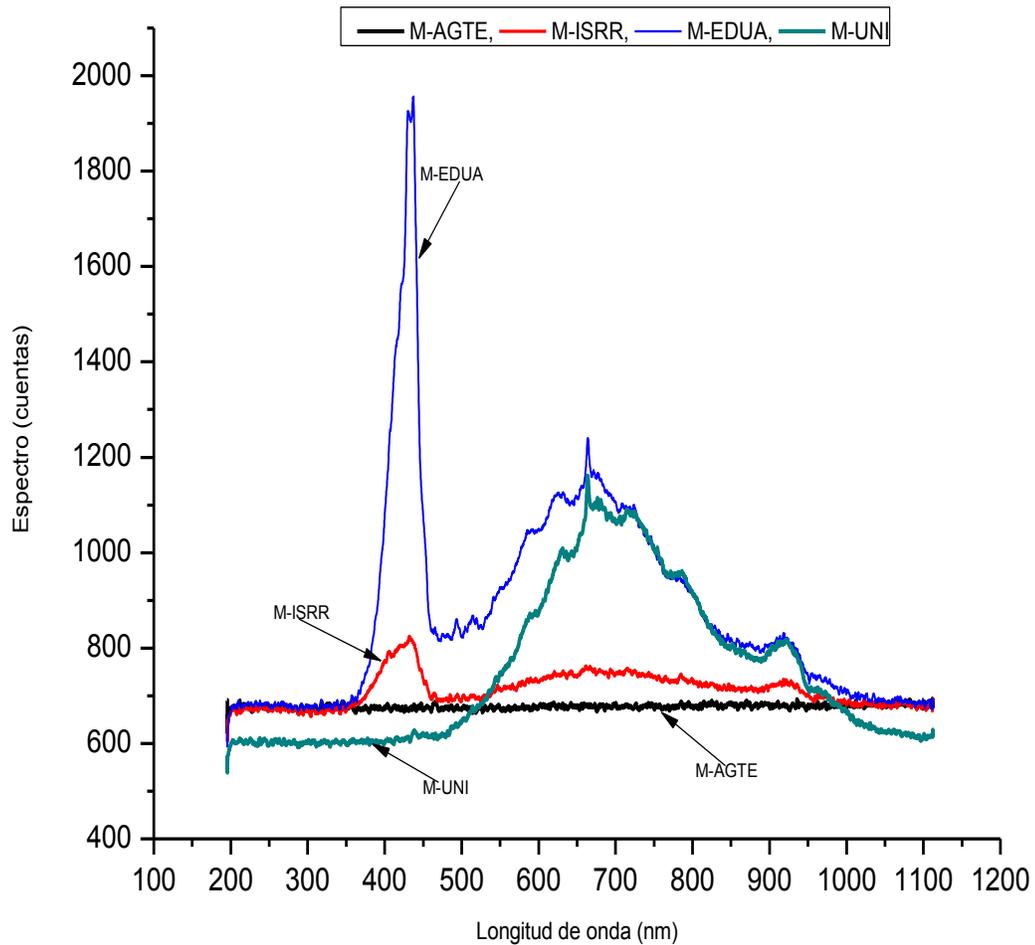
En esta gráfica las muestras de miel se separan en dos grupos por la similitud de sus perfiles en la parte superior de la gráfica podemos observar las muestras M-UNI y M-EDU, el segundo grupo en la parte inferior, formado por las muestras M-ISRR y M-AGTE.



GRÁFICA 27.- GRÁFICAS DE LOS PERFILES DE TRASMITANCIA PARA CADA MUESTRA DE MIEL DE MORELOS.

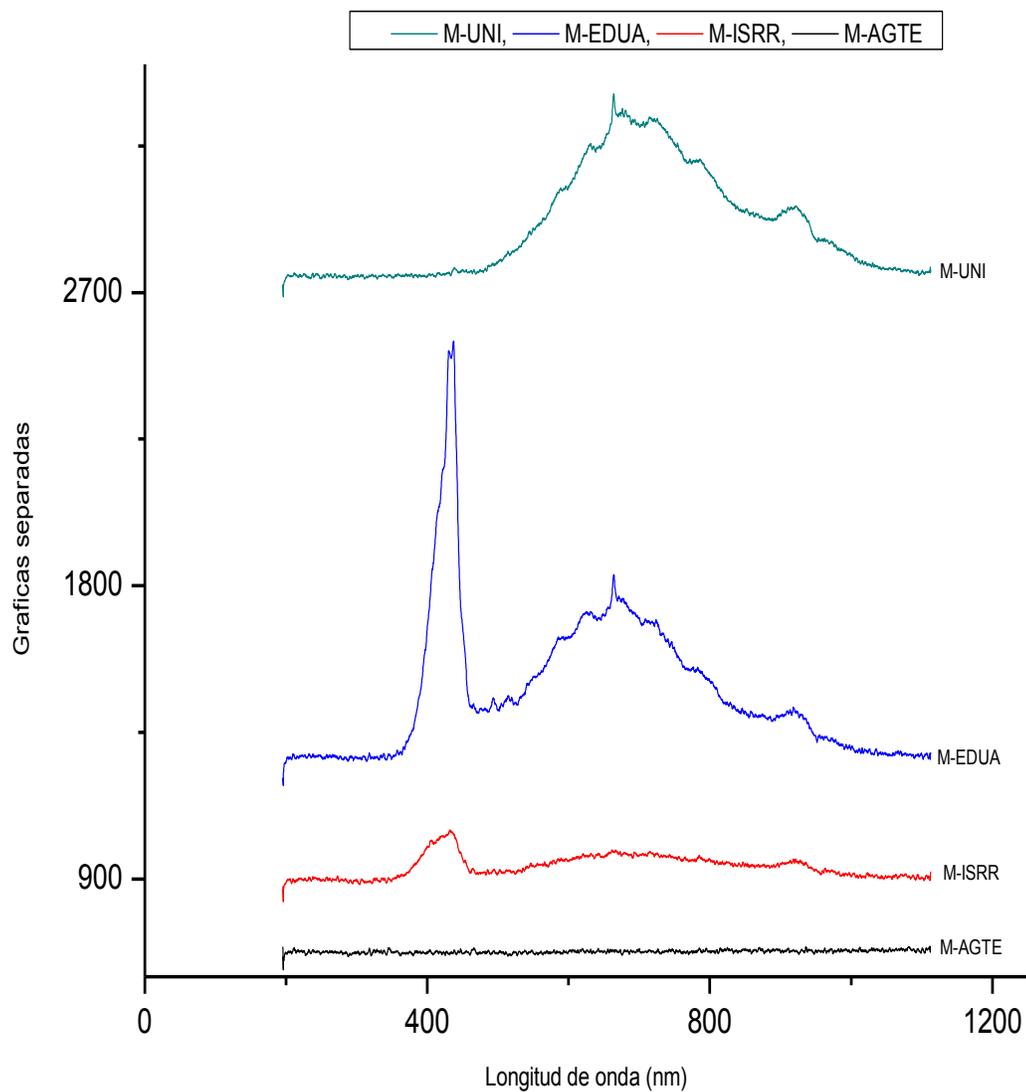
El perfil del espectro de la miel M-AGTE presenta una gran diferencia con respecto de las demás muestras, esto obedece a que la miel M-AGTE esta cristalizada en un 100% aprox.

En las siguientes gráficas se expone los perfiles de los diferentes espectros obtenidos en el rango UV-Vis para las muestras de miel del estado de Morelos.



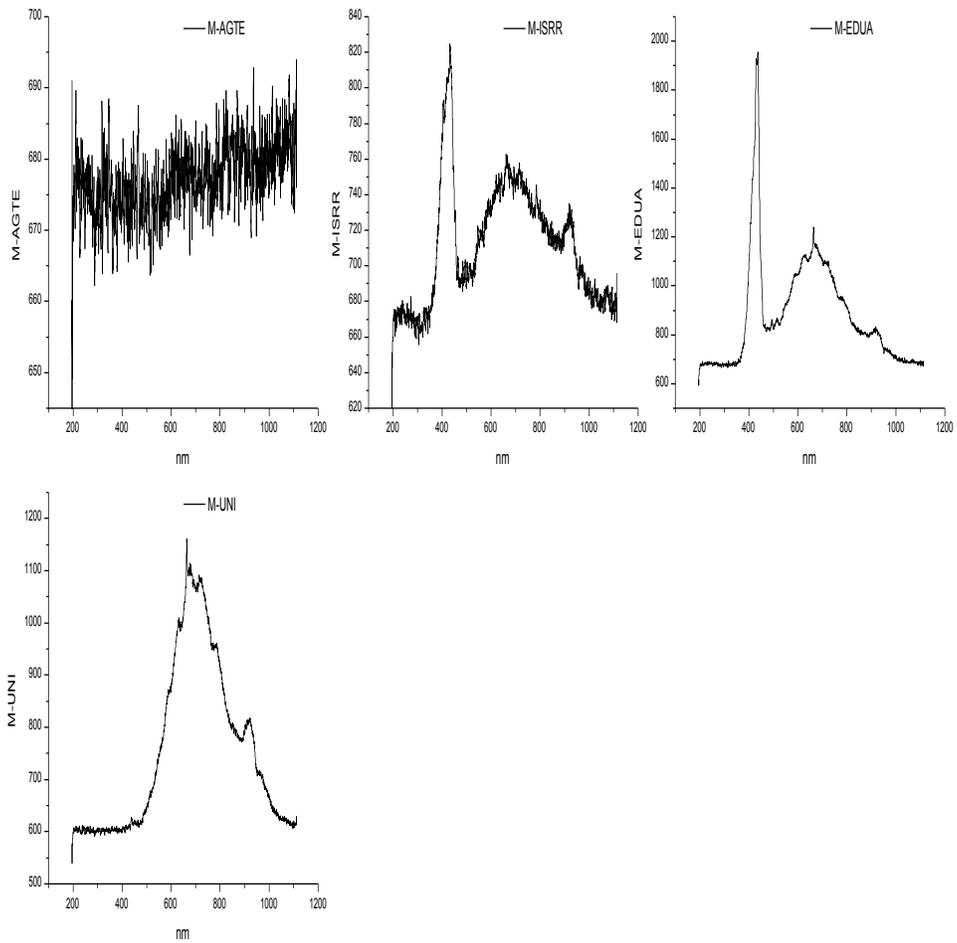
GRÁFICA 28.- PERFILES DE LOS ESPECTROS UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.

Las muestras M-ISRR y M-EDUA manifiestan un pico en la zona de los 350 nm a 450 nm aprox., en la zona de los 650 nm aprox. Las muestras M-EDUA y M-UNI presentan un incremento con respecto de las muestras M-AGTE y M-ISRR, esto obedece principalmente a los cristales presentes que no permiten una lectura clara en estas últimas dos muestras.



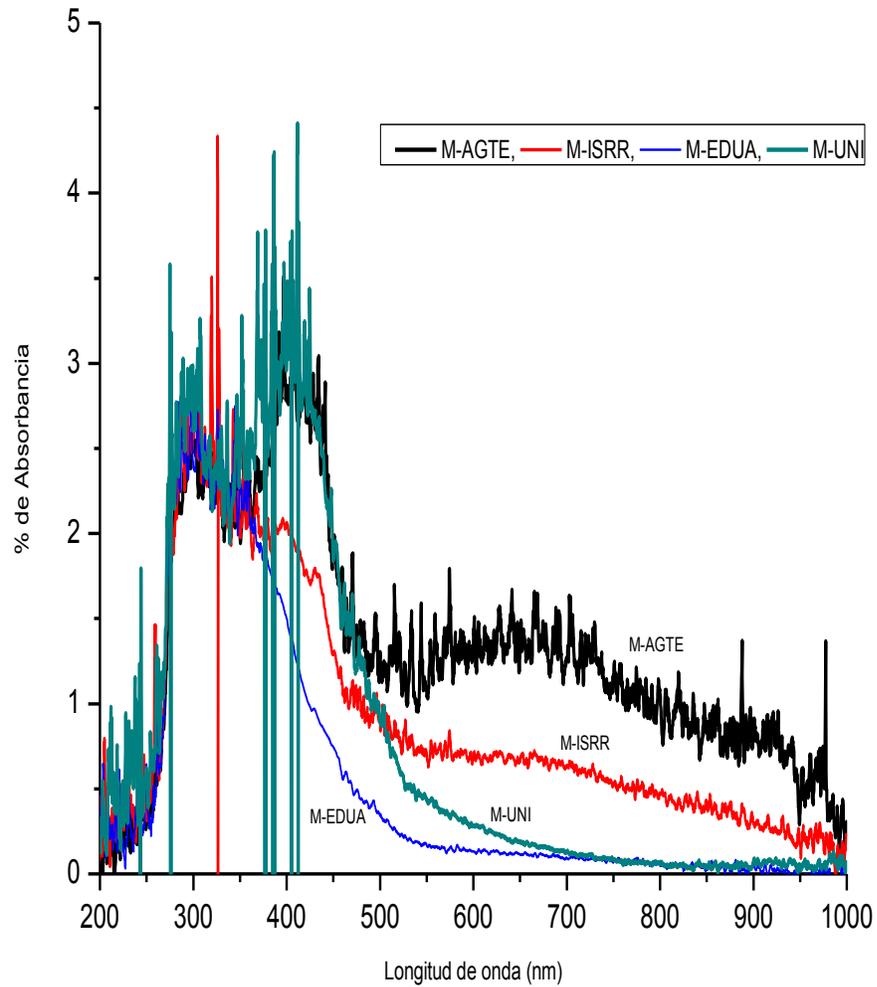
GRÁFICA 29.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS UV-VIS DE LAS DIFERENTES MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.

La muestra M-AGTE, no muestra relieves en el perfil de su espectro debido a la cristalización completa de la muestra.



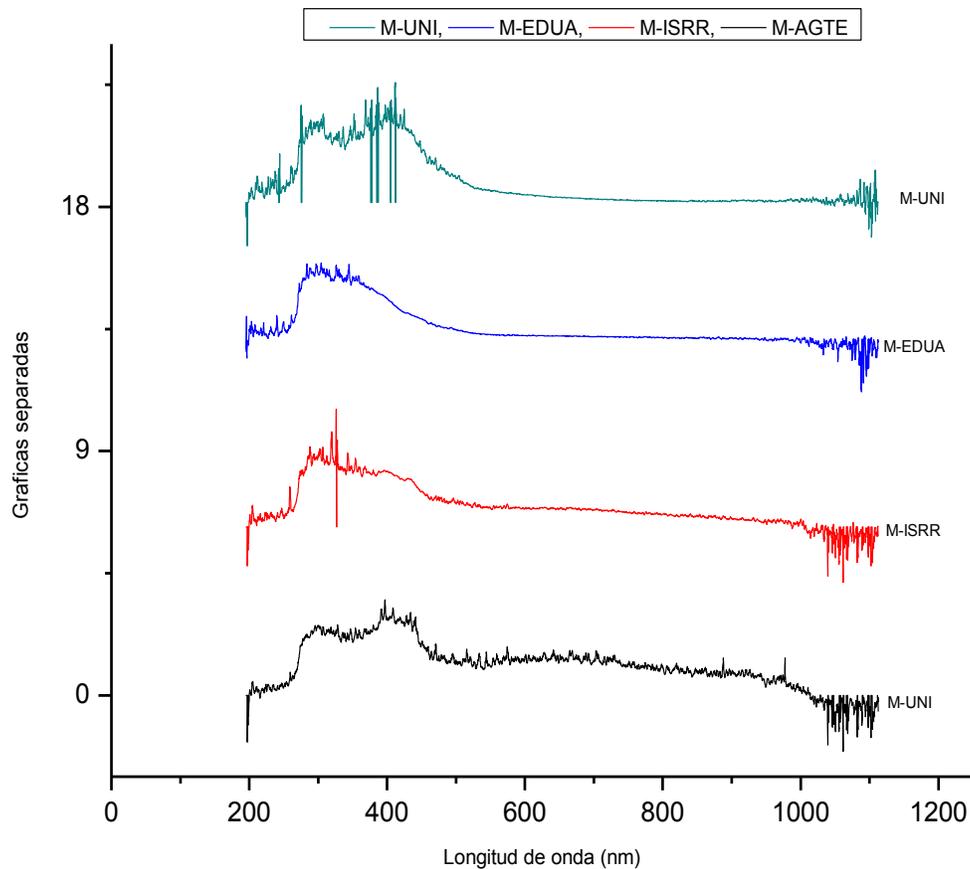
GRÁFICA 30.-GRÁFICA DE ESPECTROS UV-VIS PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.

La muestra M-AGTE (superior izquierda) muestra el excesivo ruido producto de los cristales de la miel.



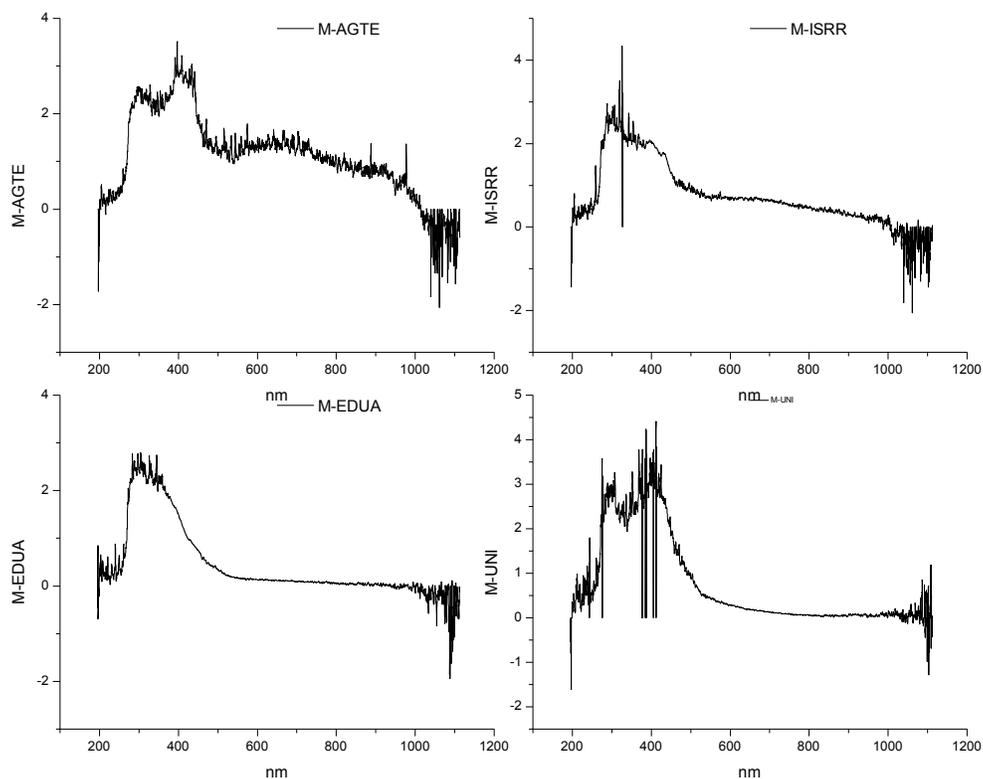
GRÁFICA 31.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.

La Absorbancia NIR es una buena referencia para los casos de mieles cristalizadas como podemos apreciar en la gráfica anterior para los casos de las muestras M-ISRR y M-AGTE.



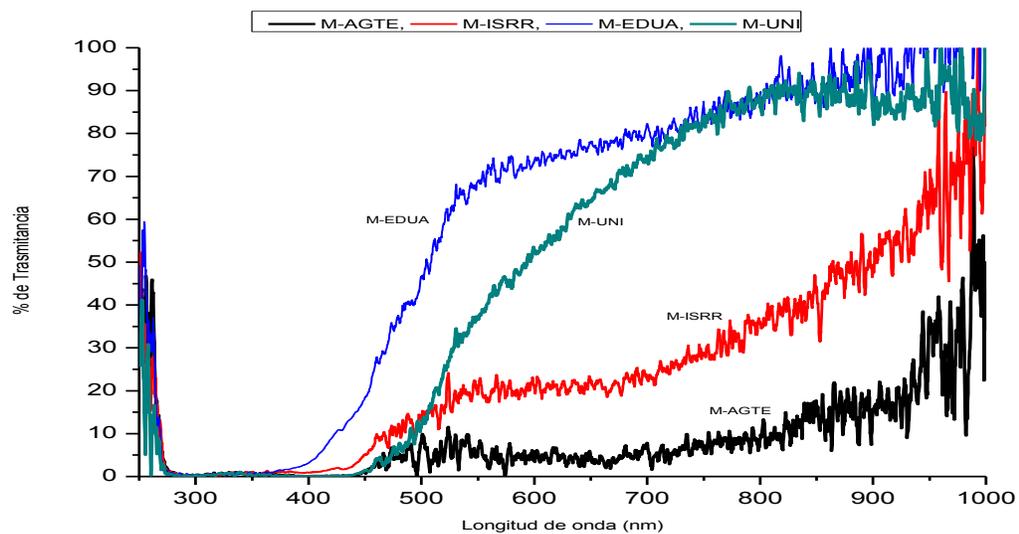
GRÁFICA 32.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA UV-Vis DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.

Aunque en estas longitudes de onda, las muestras exhiben ruido, es posible observar la similitud de perfiles entre las muestras M-UNI y M-AGTE (el perfil de línea en color negro ubicado en la parte inferior de la gráfica).

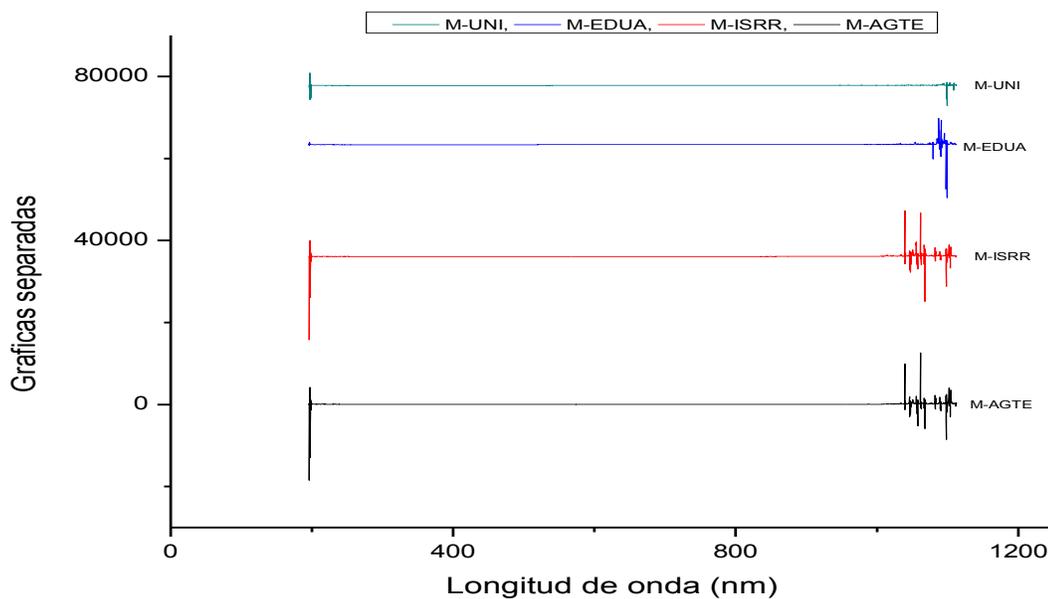


GRÁFICA 33.- PERFILES DE LOS ESPECTROS E ABSORBANCIA UV-VIS PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.

Aunque el ruido presente en las señales siempre es una complicación, permite observar los perfiles de los espectros y si son o no similares entre ellos.

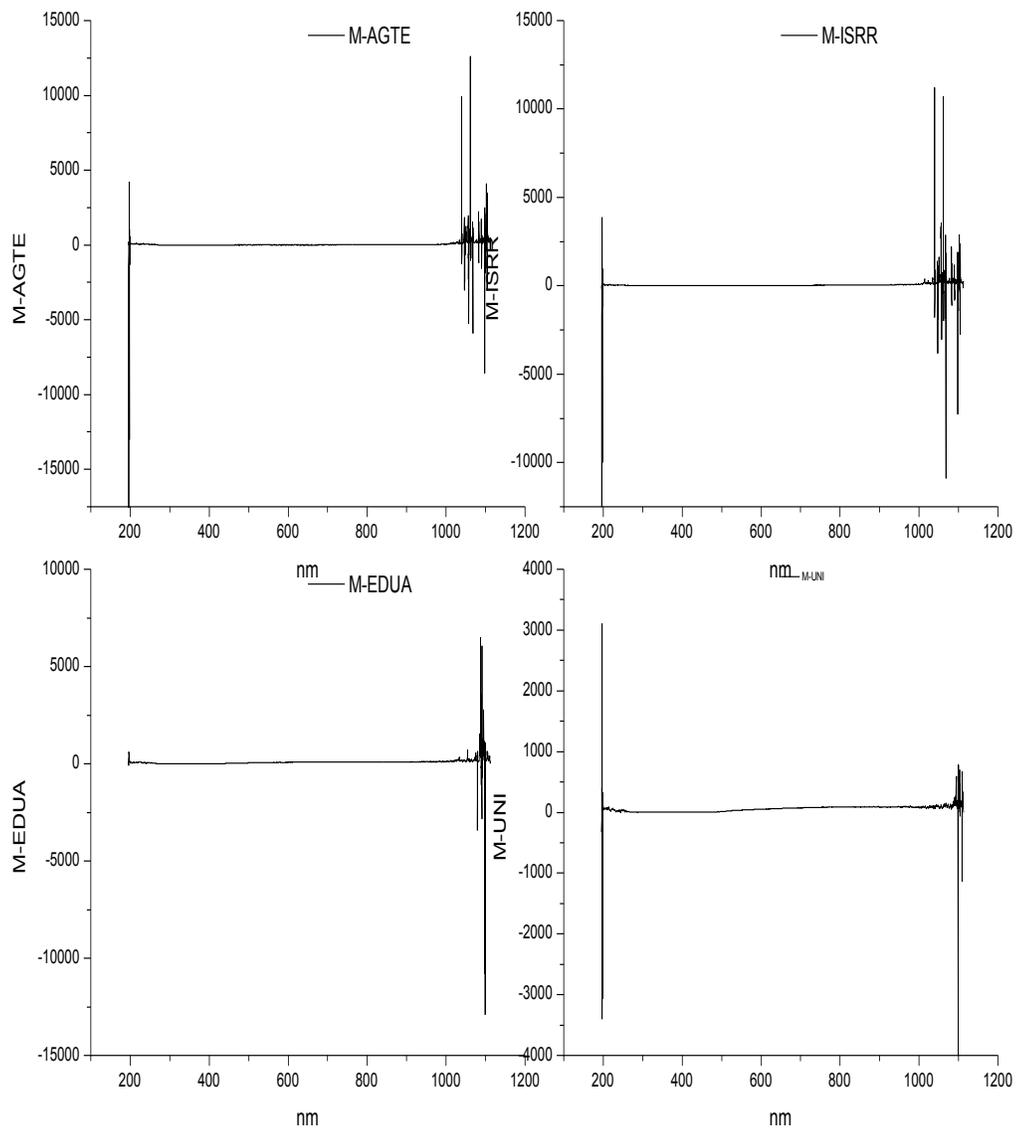


GRÁFICA 34.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRASMITANCIA UV-VIS DE LAS DIFERENTES MUESTRAS DE MIEL DEL ESTADO DE MORELOS. Todas las muestras del estado de Morelos analizadas en este trabajo contienen enzima Catalasa.



GRÁFICA 35.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE TRASMITANCIA UV-VIS DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.

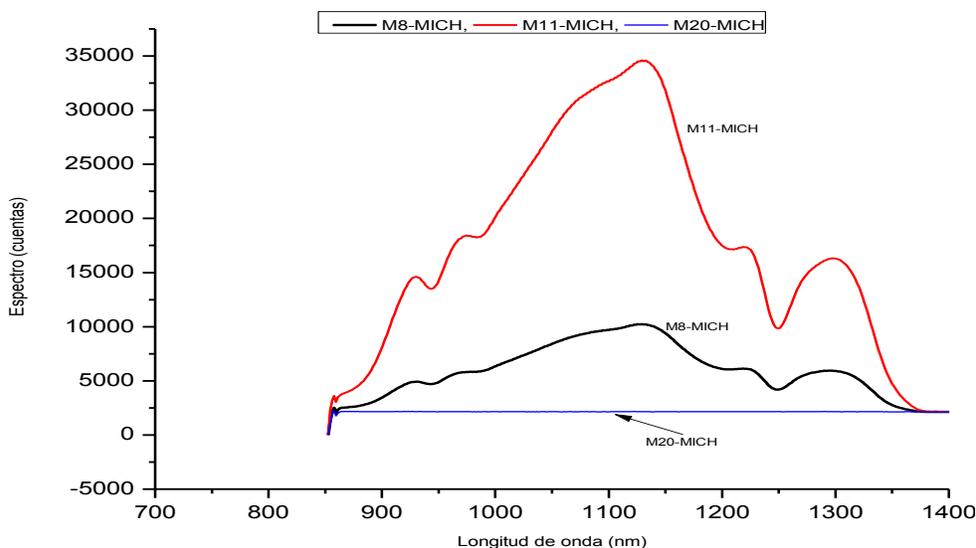
Podemos definir en base a lo que es posible observar en esta gráfica que la Trasmítancia en estas longitudes de onda y para estas mieles no representa ningún interés.



GRÁFICA 36.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRASMITANCIA UV-VIS PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MORELOS.

Tal como se comentó en la gráfica anterior la Trasmítancia en estas muestras de miel no representa ningún interés

Los Espectros que se presentaran a partir de la siguiente gráfica 37, corresponden a los perfiles de las muestras de miel obtenidas en el XXIV Congreso Internacional de Actualización Apícola celebrado en la Ciudad de Morelia Michoacán en el año 2017.



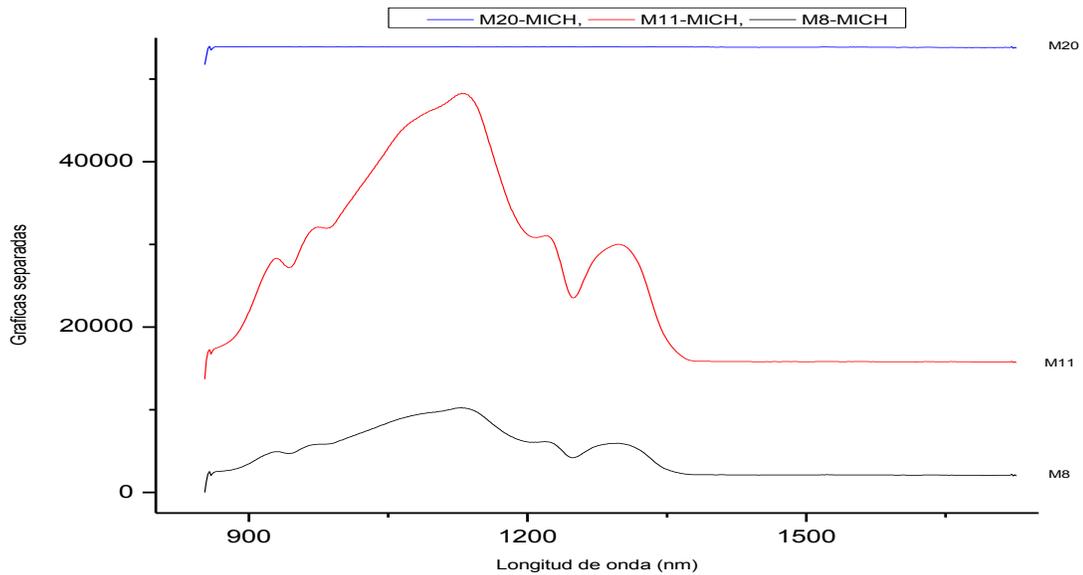
DATOS DEL TERCER GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS EN EL XXIV CONGRESO INTERNACIONAL DE ACTUALIZACIÓN APÍCOLA CELEBRADO EN MORELIA, MICHOACAN 2017

CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD AD g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD AD % PESO	pH	CAT S/AGIT	CAT C/AGIT
M8	80.7	1.406	1.408	19.3	3.28	SI	SI-N8
M11	80.2	1.416	1.419	17.8	3.91	SI	SI-N8
M20	81.2	1.409	1.411	18.8	2.85	SI	SI-N7

GRÁFICA 37.- PERFILES DE LOS ESPECTROS EN LA ZONA NIR Y TABLA DE DATOS DE LAS MUESTRAS QUE CONTIENEN CATALASA PROCEDENTES DEL ESTADO DE MICHOACÁN.

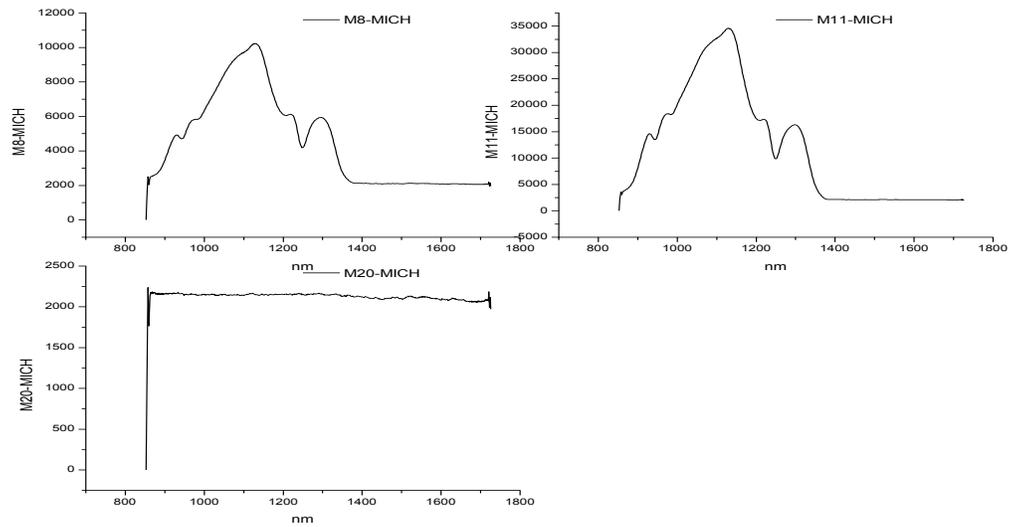
La muestra M20-MICH no presenta relieves en su perfil de Espectro debido a que se trata de una muestra de miel cristalizada, mientras que las muestras M8-MICH Y M11-MICH muestran un incremento en la zona de

los 100 nm a 1150 nm aprox., adicional presenta otro incremento en la zona de los 1250 nm a 1350 nm aprox.



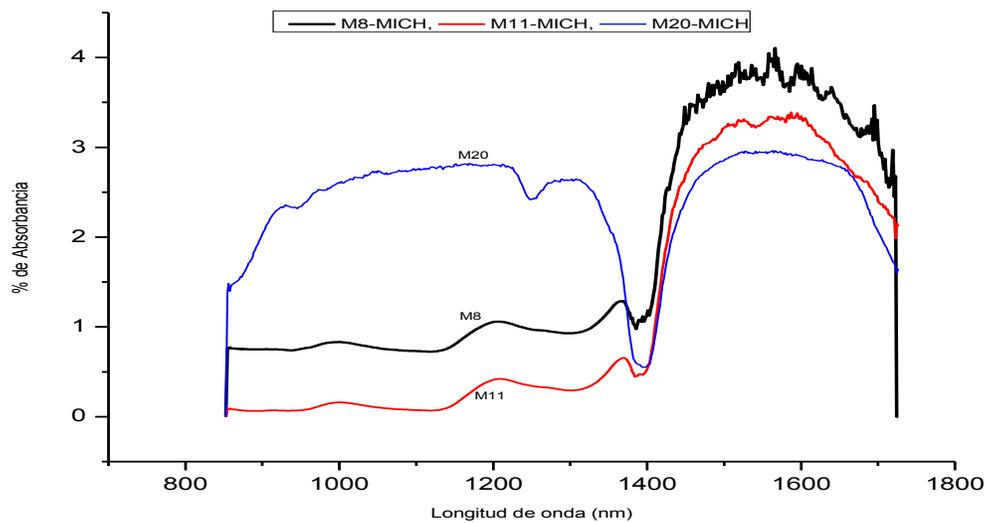
GRÁFICA 38.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS NIR DE CADA MUESTRA DE MIEL DE MICHOACÁN.

Los perfiles mostrados en esta gráfica presentan diferencia el primer perfil en orden descendente corresponde a la muestra M-20 y se trata de una muestra de miel cristalizada, el segundo perfil, aunque muy pronunciado en su valles y crestas concuerda en la forma con el tercer perfil que corresponde a la muestra de miel M-8.



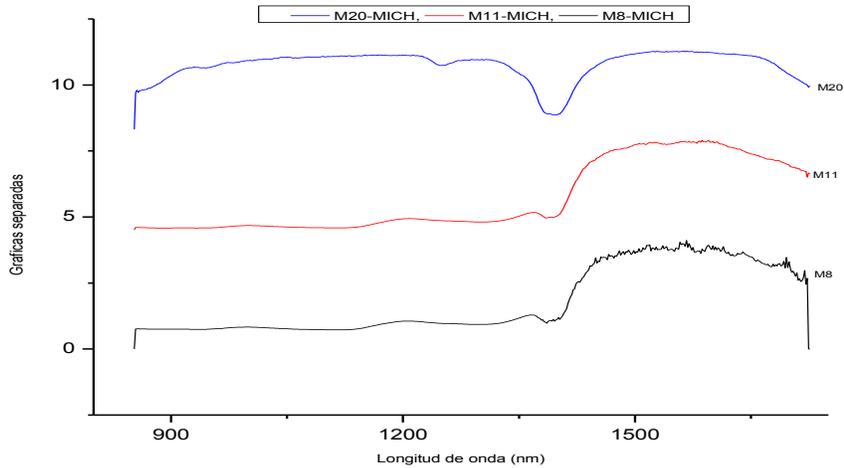
GRÁFICA 39.- PERFILES DE LOS ESPECTROS NIR PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MICHOACÁN.

Los perfiles mostrados en esta gráfica (39) corresponden en su forma como se comentó en la gráfica anterior.

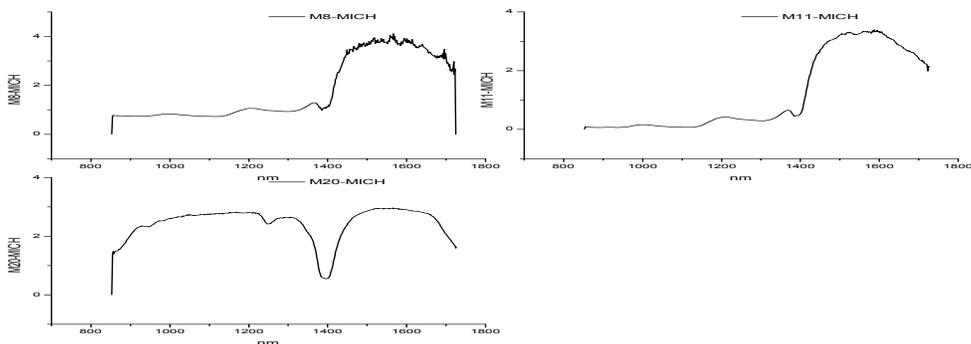


GRÁFICA 40.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MICHOACÁN.

La muestra M20-Mich, presenta un perfil atípico de las muestras de miel obtenidas hasta la fecha, esta miel obtenida en el Congreso de Michoacán.

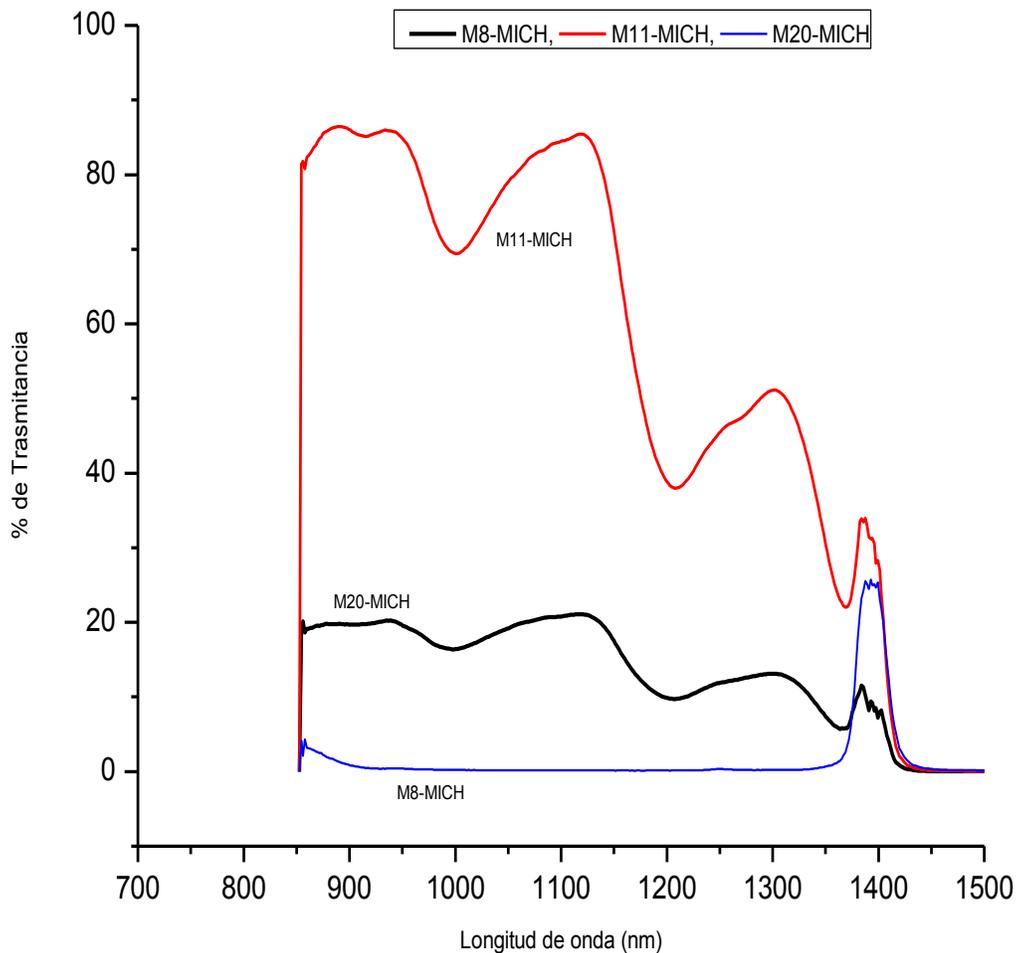


GRÁFICA 41.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MICHOACÁN. En esta zona del espectro electromagnético se puede apreciar claramente el perfil de cada uno de los espectros de absorción de cada muestra de miel, el perfil correspondiente a la muestra M-20 resulta con un valle más pronunciado que el resto de las muestras en los 400 nm aproximadamente.



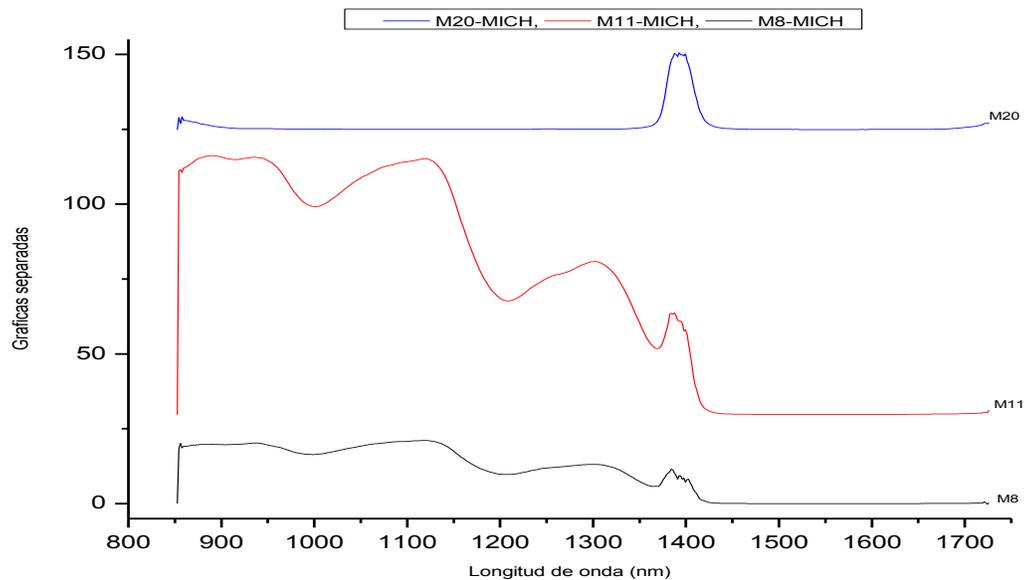
GRÁFICA 42.- GRÁFICA DE PERFILES NIR DE ABSORBANCIA PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MICHOACÁN. En esta figura es posible observar con mayor claridad la diferencia entre el perfil de la muestra M-20 y las otras muestras presentadas y que fueron

obtenidas en el Congreso de actualización apícola efectuado en Michoacán.



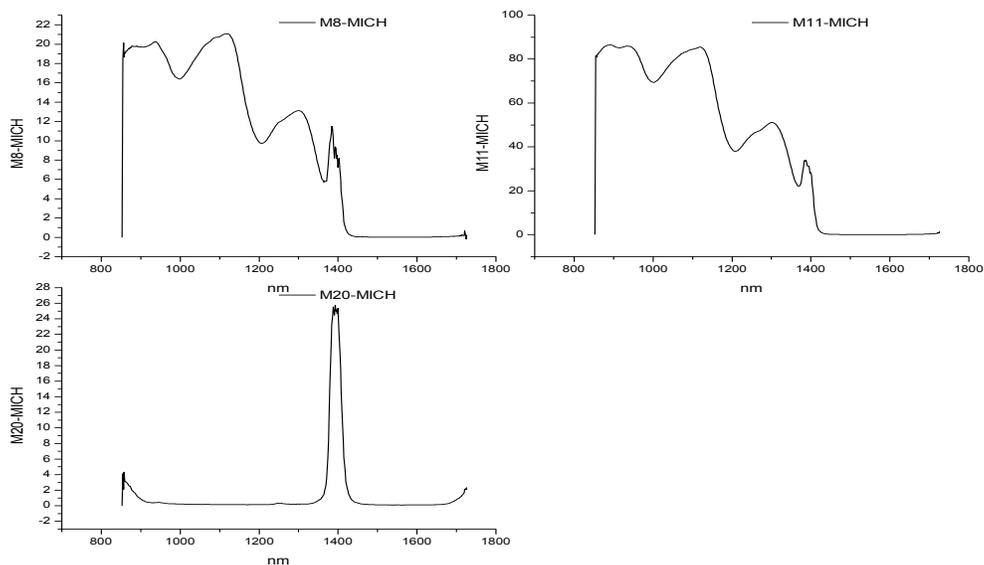
GRÁFICA 43.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRASMITANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MICHOACÁN.

La Transmitancia en el rango NIR presenta claramente la diferencia del perfil de la muestra M11-MICH con mayor Transmitancia NIR. Todas las muestras contienen enzima Catalasa.



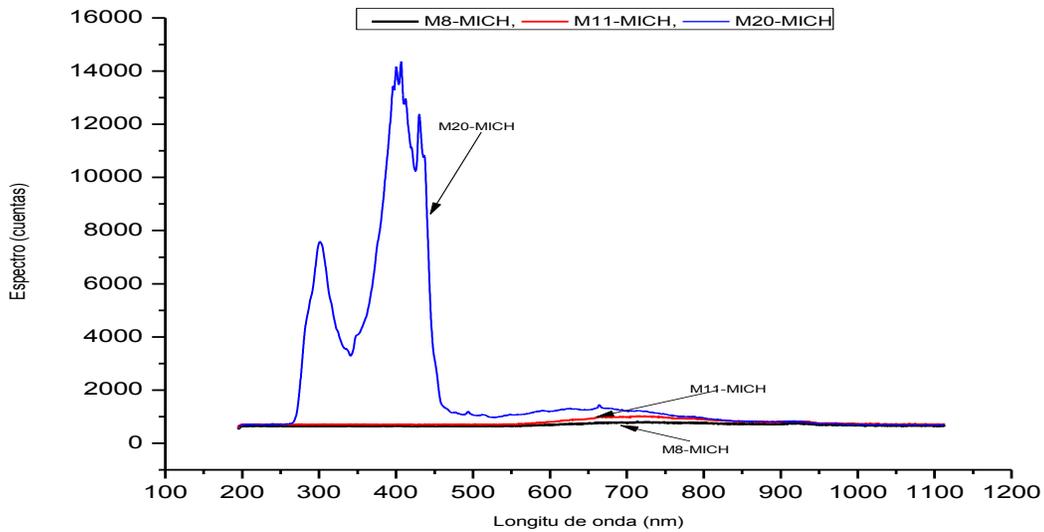
GRÁFICA 44.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE TRANSMITANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MICHOACÁN.

La muestra M-20-MICH presenta un perfil diferente tal como se puede apreciar en la gráfica 43.



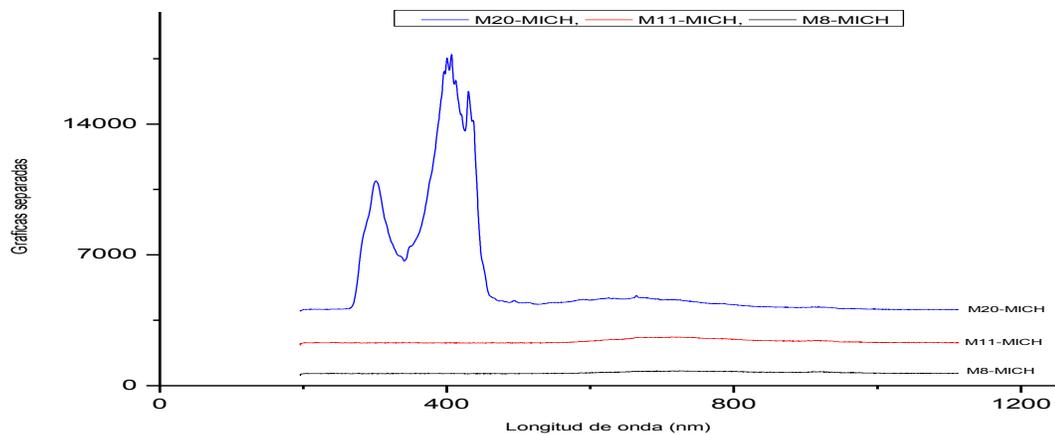
GRÁFICA 45.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRANSMITANCIA PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL OBTENIDAS EN EL CONGRESO APÍCOLA DE MICHOACÁN.

A continuación, se exhiben los perfiles de los espectros en el rango UV-Vis de las muestras de miel de Michoacán.



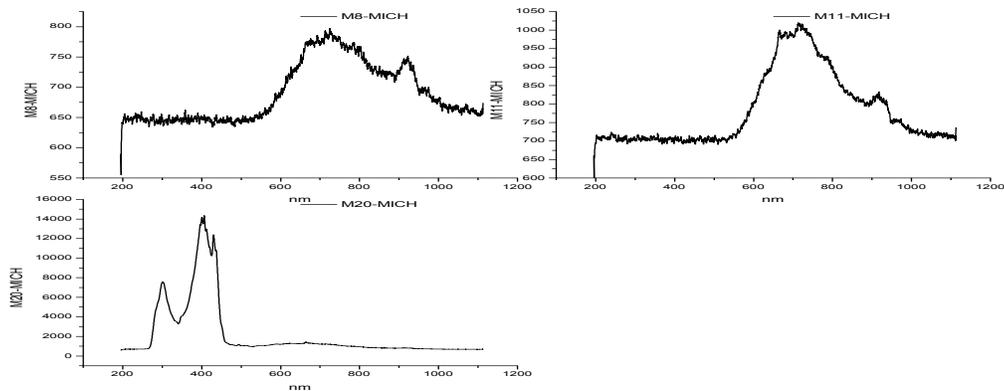
GRÁFICA 46.- PERFILES DE LOS ESPECTROS UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MICHOACÁN.

La muestra M20-MICH, destaca por los picos que muestra en los rangos de 250 nm a 350 nm aproximadamente, lo que no ocurre en los perfiles de los espectros de las muestras M8-MICH y M11- MICH.



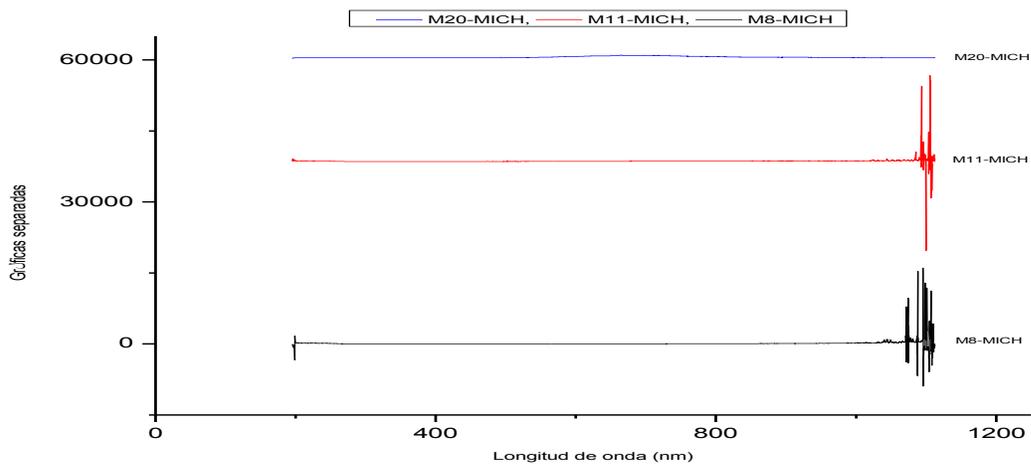
GRÁFICA 47.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL MICHOACÁN.

La muestra de miel M-20-MICH como se pudo apreciar en las gráficas anteriores presenta un espectro diferente a las demás muestras y presenta una cresta significativa en los 400 nm aprox.



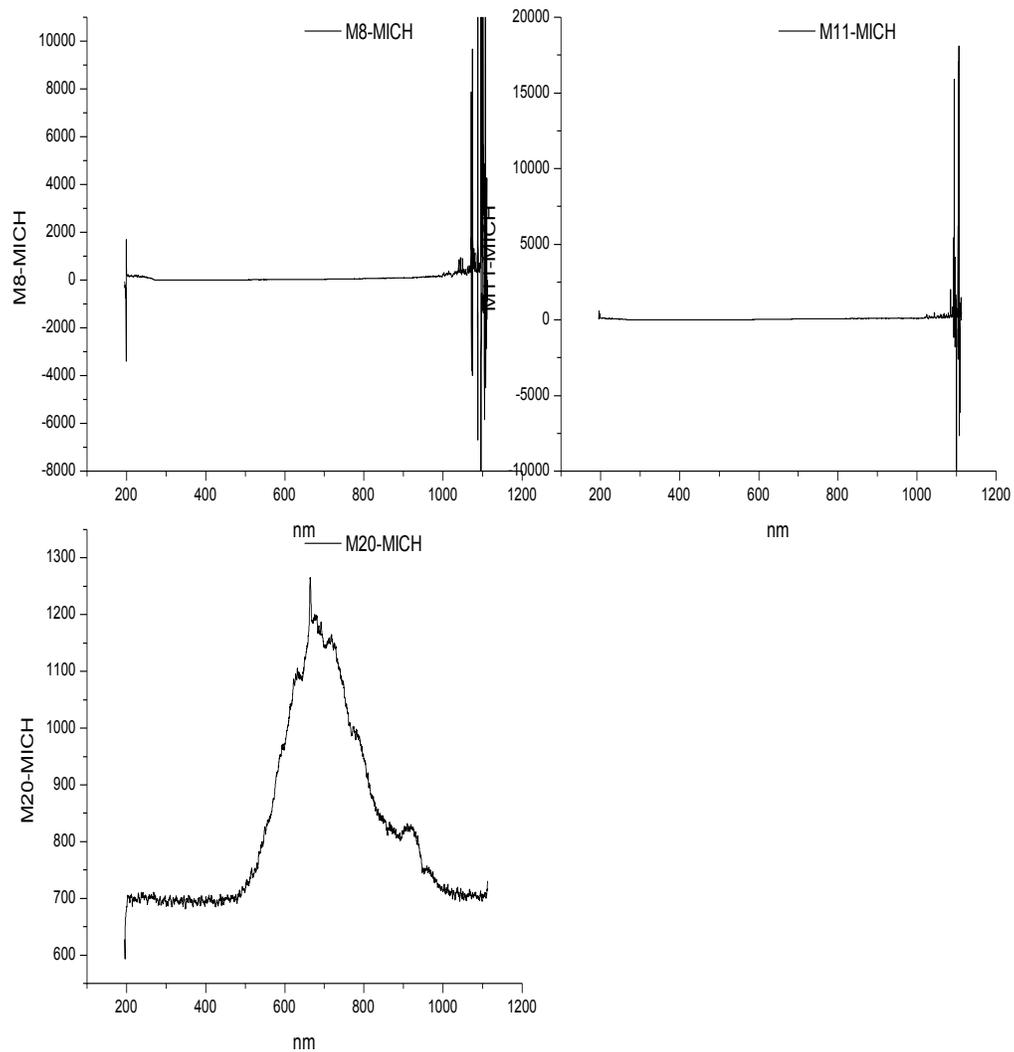
GRÁFICA 48.- PERFILES DE LOS ESPECTROS UV-VIS PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MICHOACÁN.

Los perfiles de los espectros en esta zona del EEM (Espectro Electromagnético) muestran diferencia entre sí.



GRÁFICA 49.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS ESPECTROS DE TRASMISIVIDAD UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MICHOACÁN.

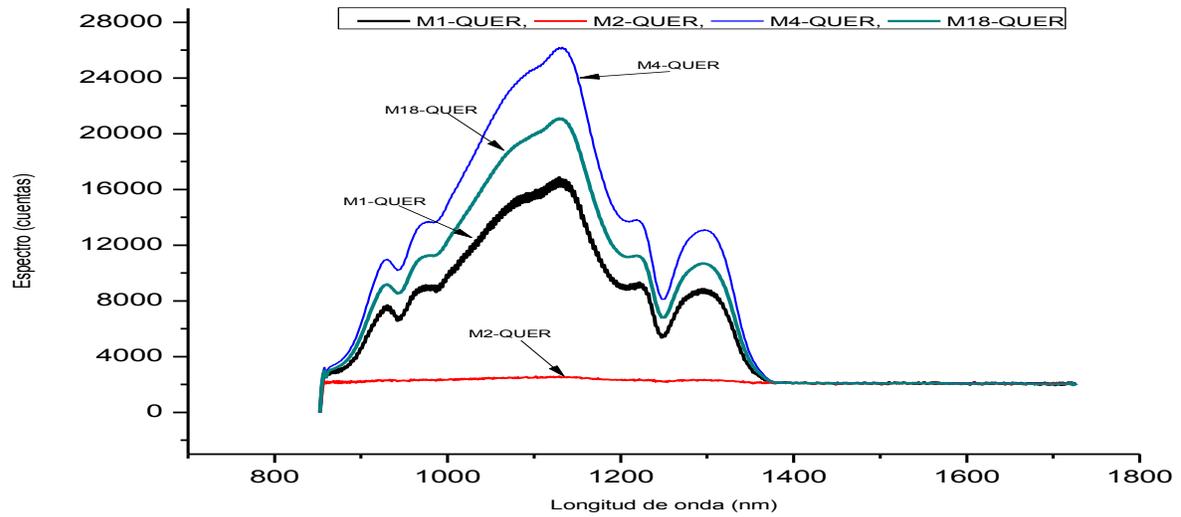
Como en otras muestras de miel analizadas la Trasmisividad en la zona Vis-NIR no presentan características notorias e interesantes.



GRÁFICA 50.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRASMISANCIA UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE MICHOACÁN.

Las muestras M8-MICH y M11-MICH son muestras de miel cristalizada por lo que sus perfiles no muestran relieves.

El siguiente grupo de gráficas corresponde a los perfiles de las muestras de miel que contienen enzima Catalasa obtenidas en el XXV Congreso Internacional de Actualización Apícola celebrado en Querétaro 2018.

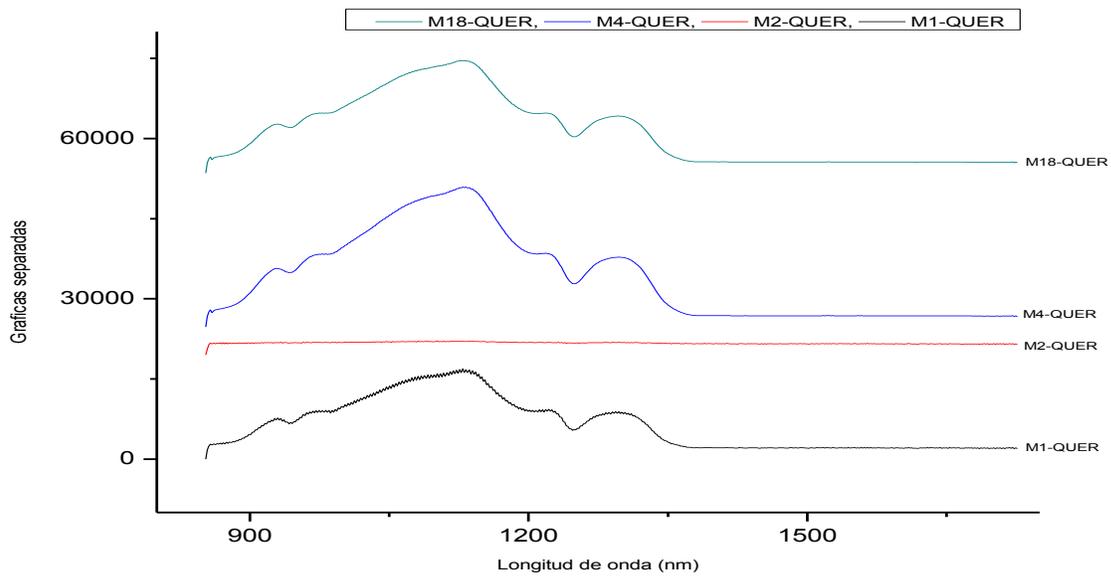


DATOS DEL CUARTO GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS EN EL XXV CONGRESO INTERNACIONAL DE ACTUALIZACIÓN APÍCOLA CELEBRADO EN QUERETARO EN EL AÑO 2018

CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD % PESO	pH	CAT S/AGIT	CAT C/AGIT
M2	79.1	1.393	1.396	20.9	1.60	SI	SI-N10
M18	82.6	1.420	1.420	17.5	3.29	SI	SI-N9
M20	84.8	1.431	1.434	15.2	*	SI	SI-N10

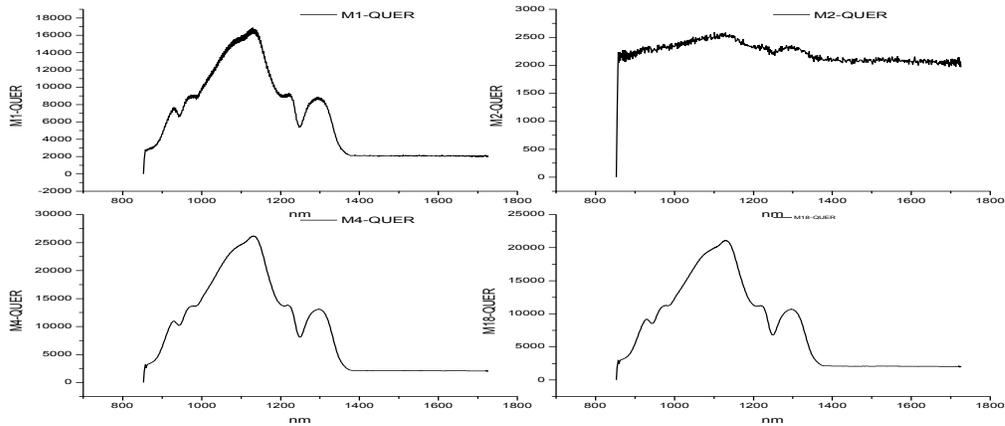
GRÁFICA 51.- PERFILES DE LOS ESPECTROS EN LA ZONA NIR Y TABLA DE DATOS DE LAS MUESTRAS DE MIEL QUE CONTIENEN CATALASA PROCEDENTES DEL ESTADO DE QUERÉTARO.

La muestra M2-QUER no presenta relieve en el perfil de su espectro debido a que se trata de una muestra de miel cristalizada.



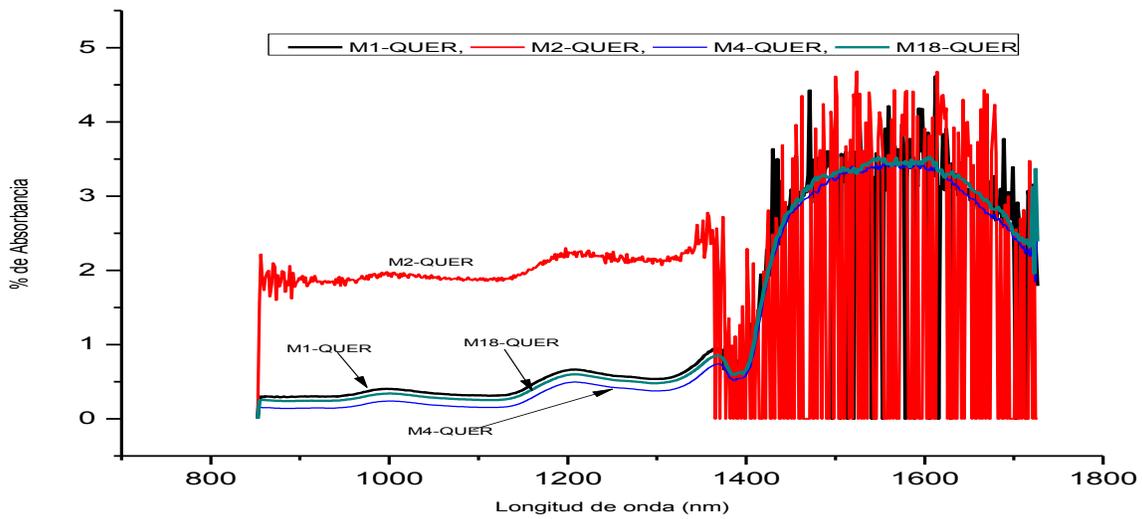
GRÁFICA 52.- FIGURA 54.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS NIR DE LA MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.

El perfil de la muestra M-2-QUER aparece con forma lineal debido a que se trata de miel cristalizada

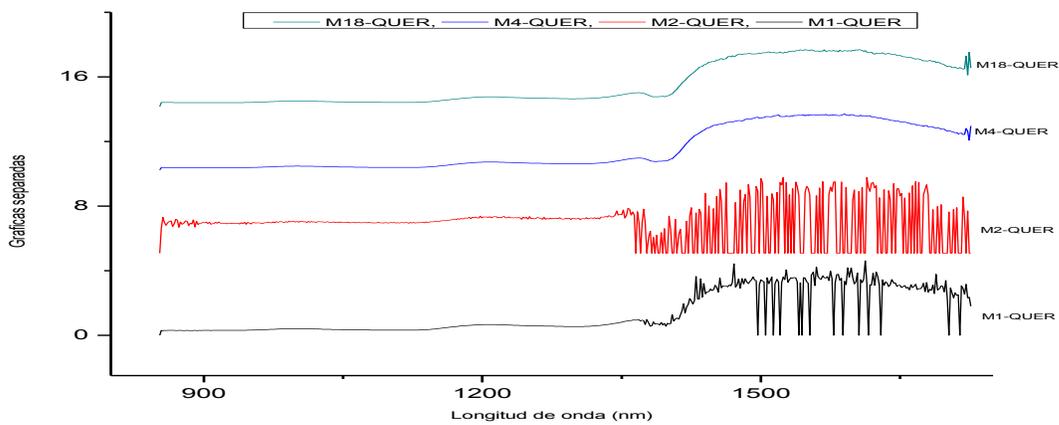


GRÁFICA 53.- PERFILES DE LOS ESPECTROS NIR PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.

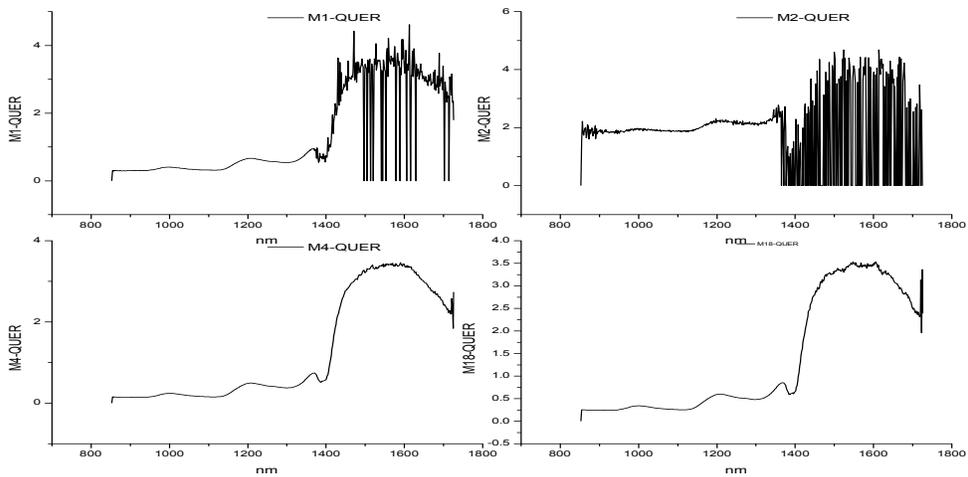
La muestra M-2-QUER en la zona derecha superior de la gráfica aparece con perfil lineal por estar cristalizada.



GRÁFICA 54.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.
 La muestra M2-QUER (miel cristalizada) es posible que sea observado en la zona NIR en el rango de 850 nm a 1350 nm aprox. Lo que permite conocer con buena resolución una parte importante del perfil de su espectro de absorción.

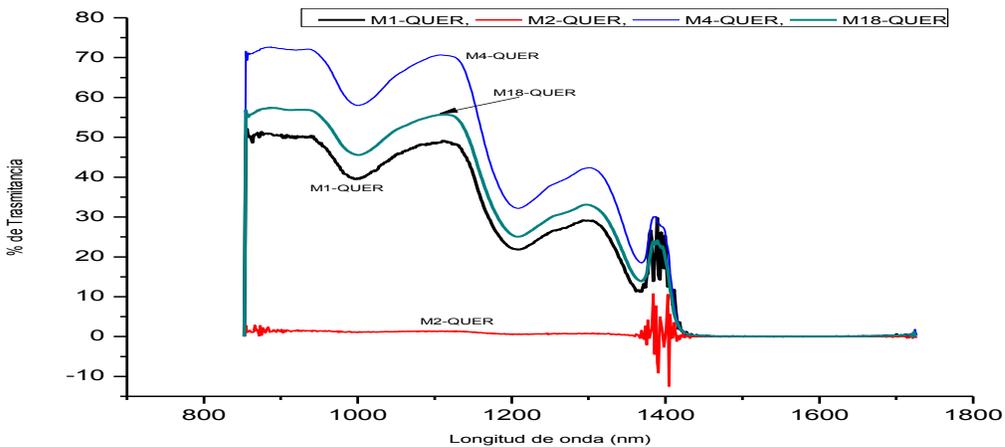


GRÁFICA 55.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.
 A partir de los 1350 nm aprox. podemos observar el fenómeno de ruido generados por los cristales de miel.



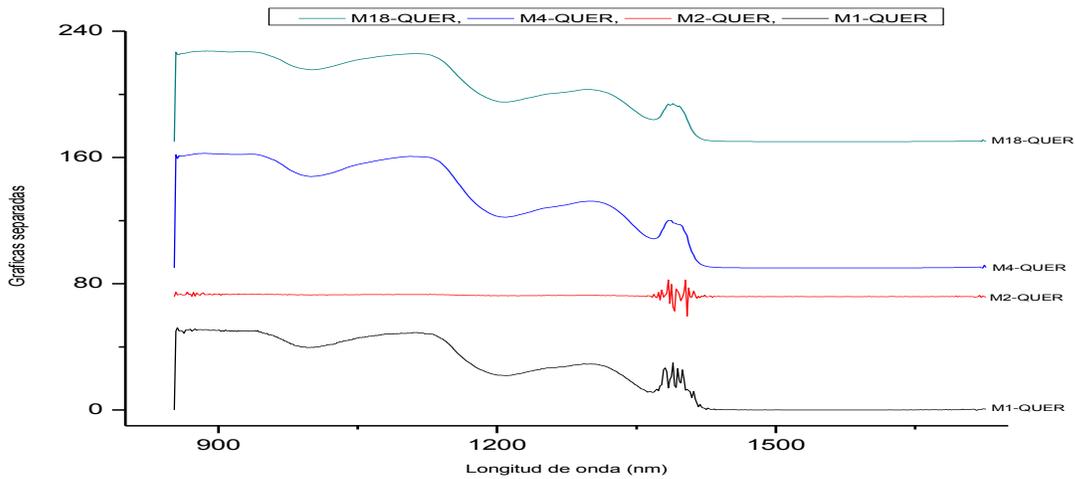
GRÁFICA 56.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO QUE CONTIENEN CATALASA.

Los perfiles de los espectros con mejor definición pertenecen a las muestras M4-QUER y M18-QUER, que son muestras líquidas (sin cristales).



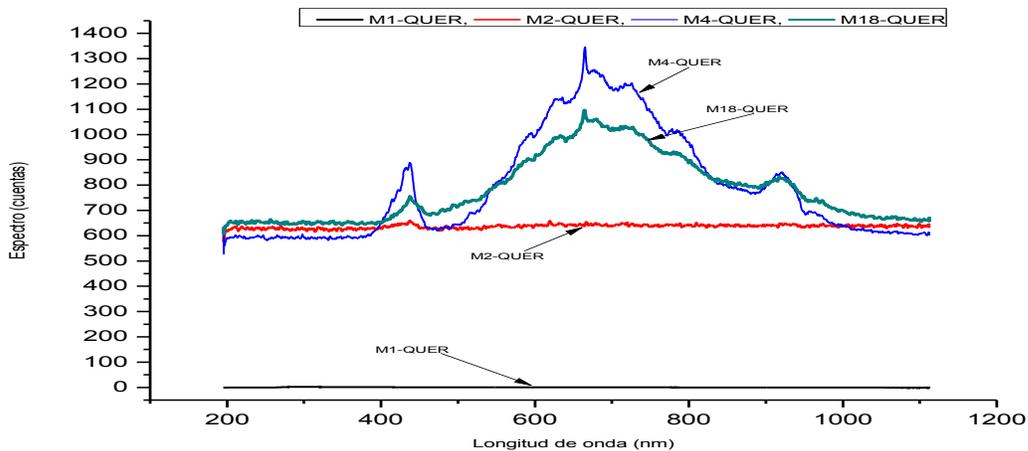
GRÁFICA 57.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRASMITANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.

Como se puede observar la Transmitancia NIR tiene aplicación para identificar que se trata de una muestra de miel **cristalizada**.



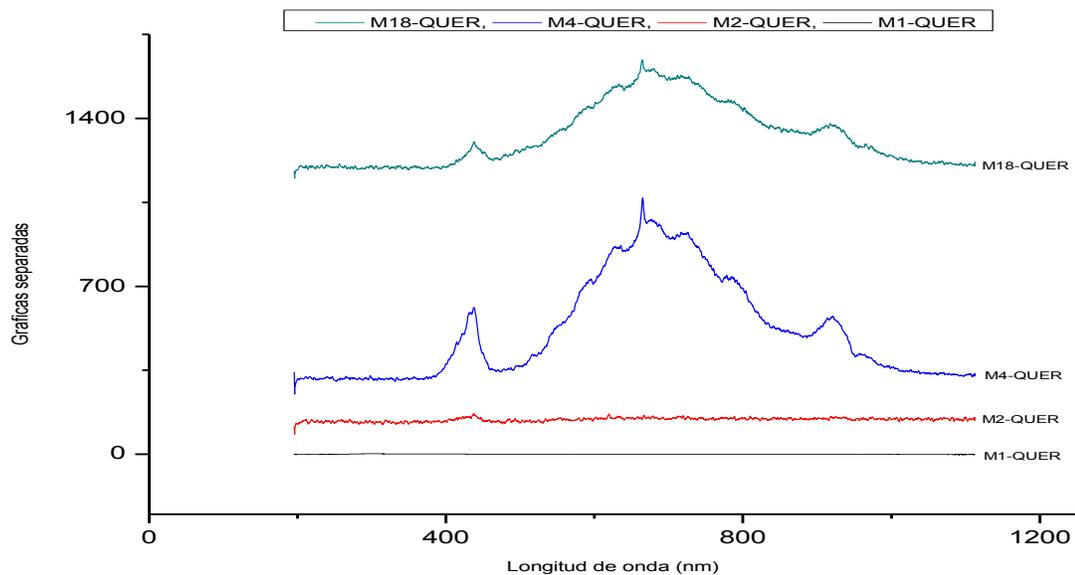
GRÁFICA 58.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DEL ESPECTRO DE TRANSMITANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.

Las siguientes imágenes muestran los perfiles de los espectros en la zona de luz UV-Vis de las muestras de miel de Querétaro.



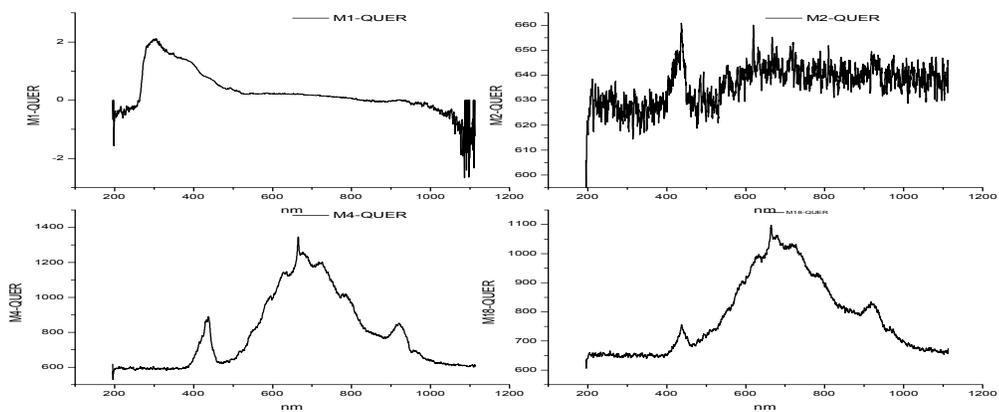
GRÁFICA 59.- PERFILES DE LOS ESPECTROS UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.

Las muestras M1-QUER y M2-QUER, el Espectro nos permite conocer, en función de la experiencia, que se trata de miel cristalizada.



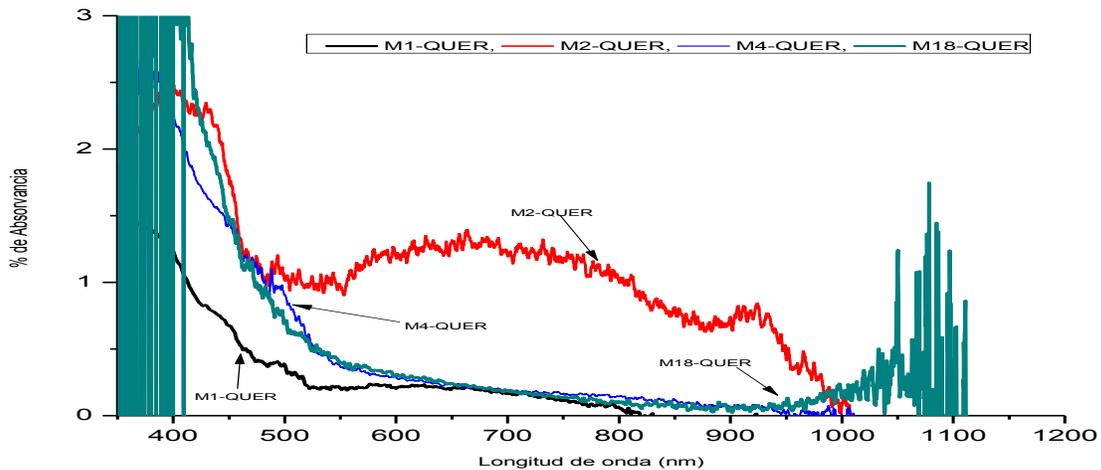
GRÁFICA 60.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS ESPECTROS UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.

Las muestras M-4-QUER y M-18-QUER que son miel líquida, presentan diferencia en el perfil de su espectro con respecto de las otras dos muestras.



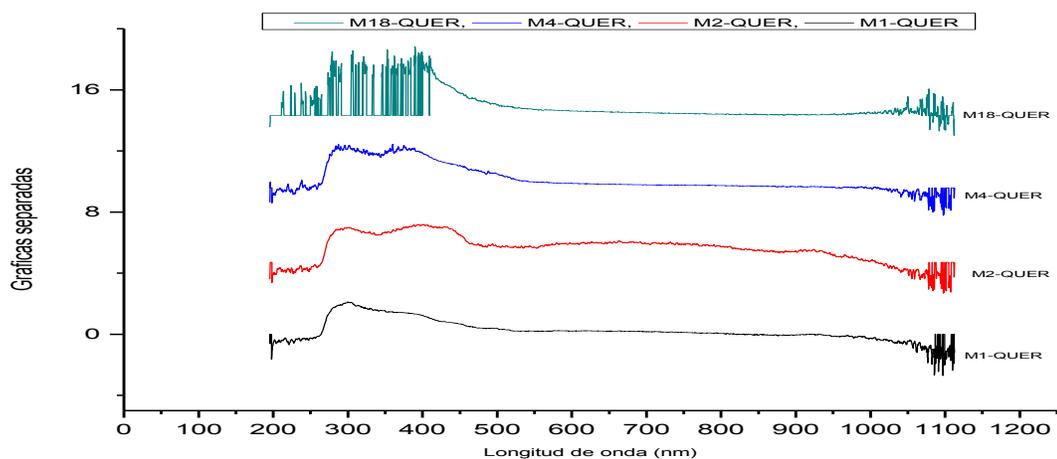
GRÁFICA 61.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.

La muestra M-2-QUER es una miel cristalizada y debido a ello presenta una gran cantidad de ruido en la señal.



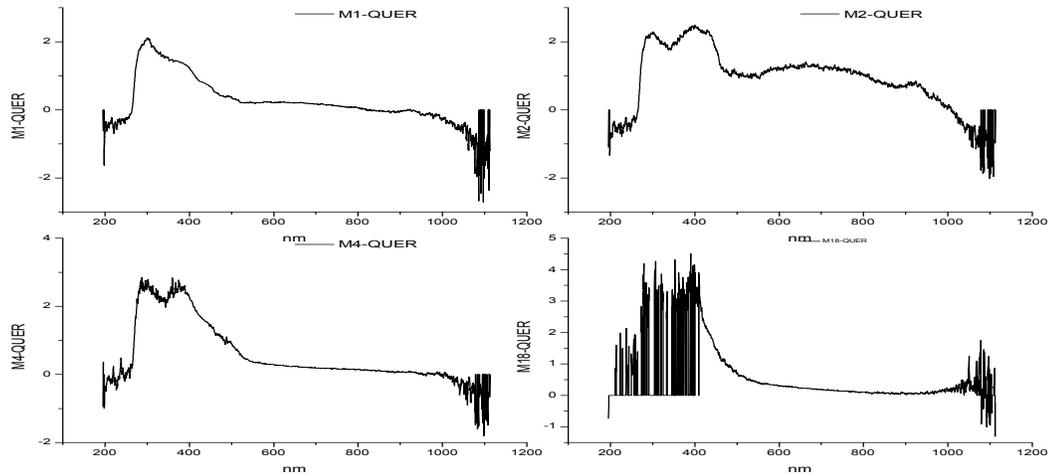
GRÁFICA 62.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.

Los perfiles de los espectros en la zona UV-Vis para estas muestras de miel no resulta de utilidad, la inclusión de la gráfica tiene el propósito de mostrar lo que acontece en esas longitudes de onda.

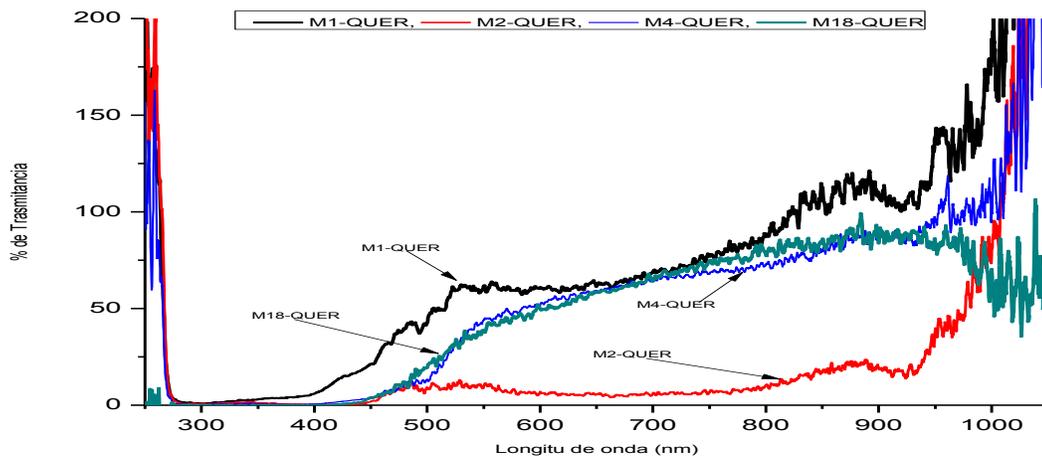


GRÁFICA 63.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.

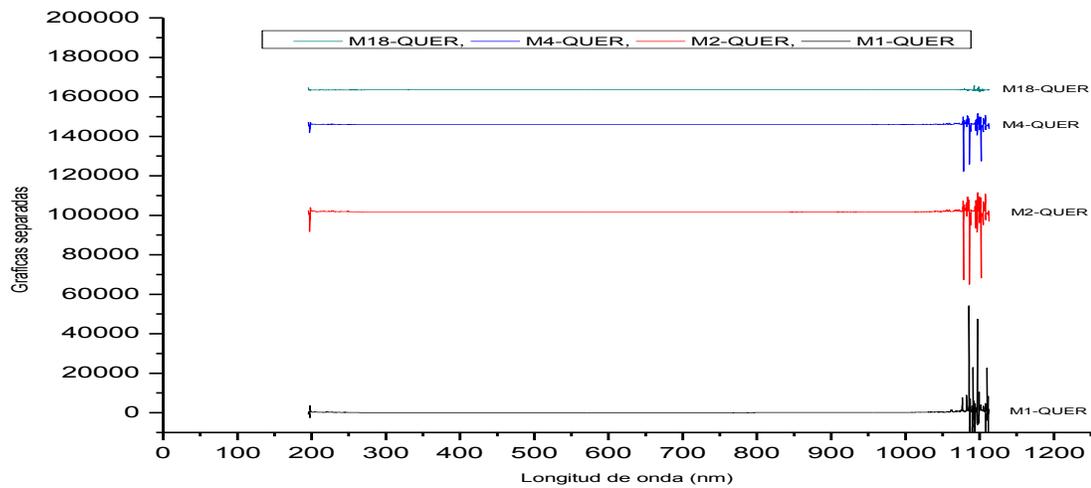
La separación de los perfiles de los espectros permite obtener un arreglo que facilite la observación de estas muestras de miel.



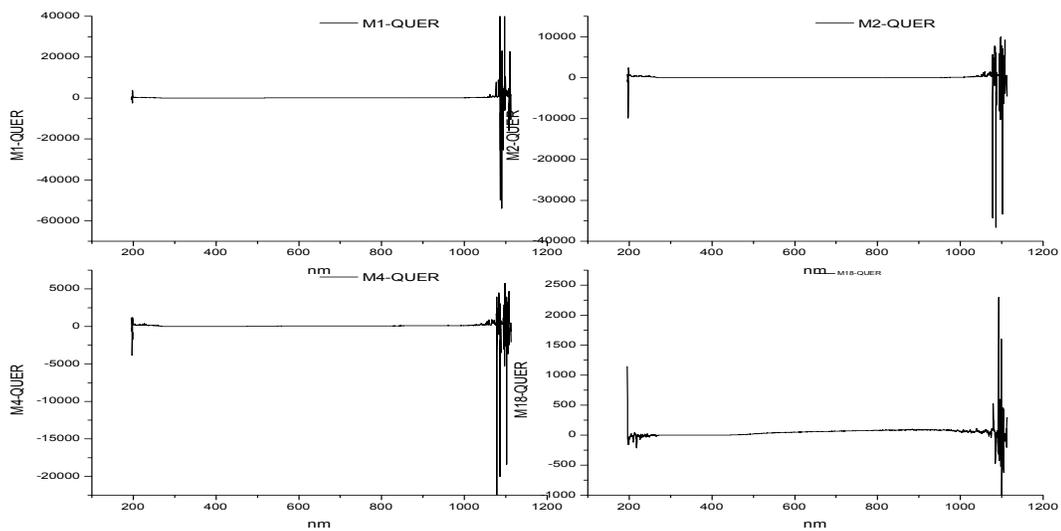
GRÁFICA 64.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA UV-VIS PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.
La muestra M-18-QUER muestra intenso ruido en el rango de 200nm a 400nm a diferencia de las otras muestras.



GRÁFICA 65.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRASMITANCIA UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.
En el caso de las muestras de Querétaro que contienen Catalasa los perfiles de los espectros resultan con interferencia entre ellos, excepto el de la muestra M-2-QUER.

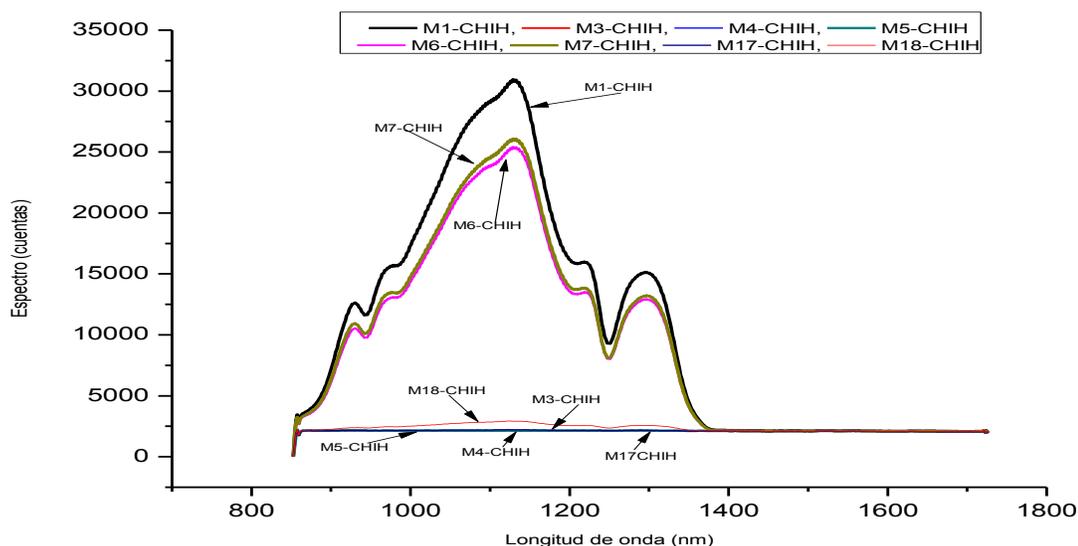


GRÁFICA 66.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.
 La separación de los perfiles de los espectros para este caso en particular no proporciona información de interés.



GRÁFICA 67.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRANSMITANCIA UV-VIS PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE QUERÉTARO.
 Como en la gráfica anterior (66) no es posible obtener información de interés porque los perfiles no muestran diferencias entre sí.

Las próximas gráficas presentan los diferentes perfiles de los espectros obtenidos para ocho muestras de miel de Chihuahua que contienen enzima Catalasa, el grupo analizado constó de once muestras en total.



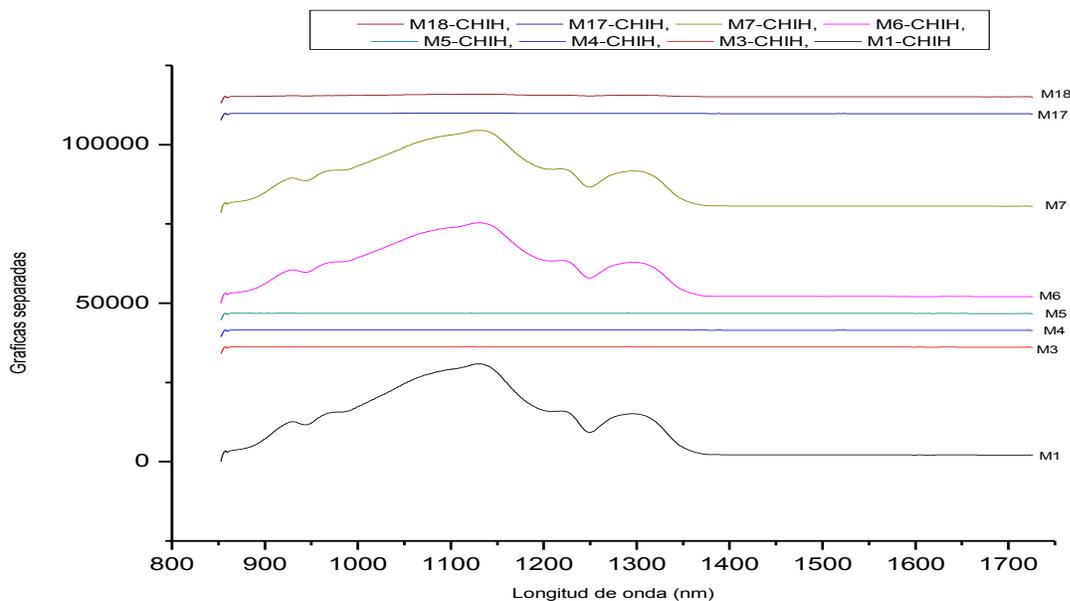
DATOS DEL CUARTO GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS EN EL XXVI CONGRESO INTERNACIONAL DE ACTUALIZACIÓN APÍCOLA CELEBRADO EN CD. JUÁREZ, CHIH. EN EL AÑO 2019

CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD % PESO	pH	CAT S/AGI	CAT C/AGIT
M1	81.5	1.412	1.413	18.5	4.39	SI-N8	SI-N10
M3	81.7	1.413	1.415	18.3	2.06	SI-N8	SI-N8
M4	81.0	1.407	1.410	19.1	3.40	NO	SI-N10
M5	81.9	1.413	1.416	18.2	4.91	NO	SI-N9
M6	83.7	1.425	1.428	16.4	3.59	SI-N10	SI-N10

M7	83.9	1.427	1.429	16.1	3.91	SI-N8	SI-N8
M17	83.5	1.424	1.426	16.6	4.70	SI-N8	SI-N8
M18	81.6	1.412	1.415	18.4	3.30	SI-N8	SI-N8

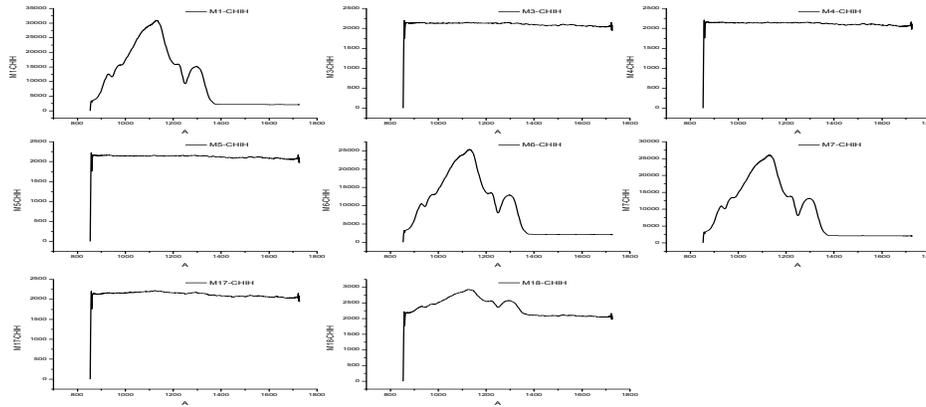
GRÁFICA 68.- PERFILES DE LOS ESPECTROS EN LA ZONA NIR Y TABLA DE DATOS DE LAS MUESTRAS DE MIEL QUE CONTIENEN CATALASA PROCEDENTES DEL ESTADO DE CHIHUAHUA.

En este grupo, del total de las ocho muestras que contienen Catalasa cinco muestras, M3-CHIH, M4-CHIH, M5-CHIH M17-CHIH y M18-CHIH están cristalizadas, sus perfiles están ubicados en la zona inferior de la figura (70) y de la tabla tenemos que existen dos muestras de miel, (M-4 y M-5) en las que el peróxido de hidrógeno mostró inactividad (reacción) inicial inmediata; la reacción ocurrió hasta que la mezcla miel-peróxido de hidrógeno fue agitada.



GRÁFICA 69.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

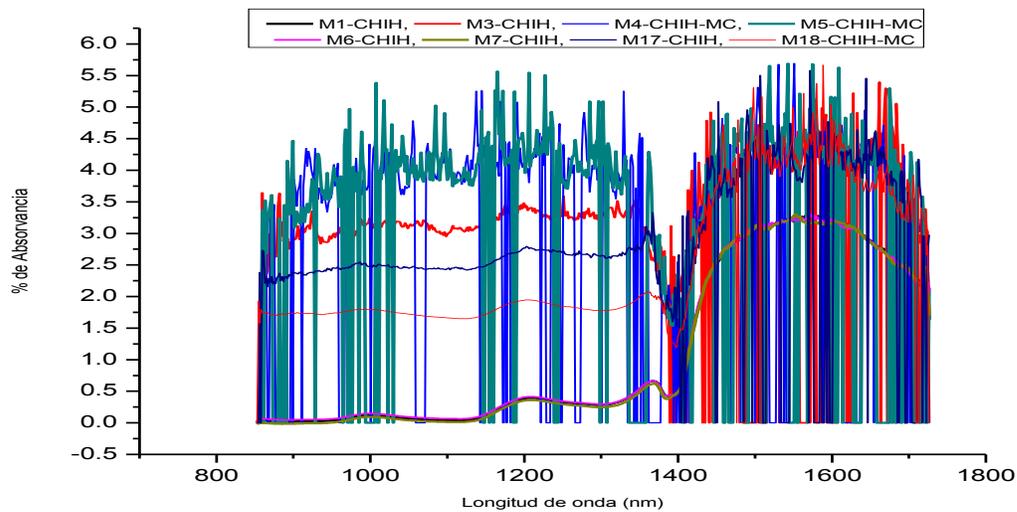
Los perfiles que se observan como líneas rectas corresponden a las muestras de miel cristalizadas.



Perfiles de los Espectros de Transmitancia NIR de cada una de las muestras

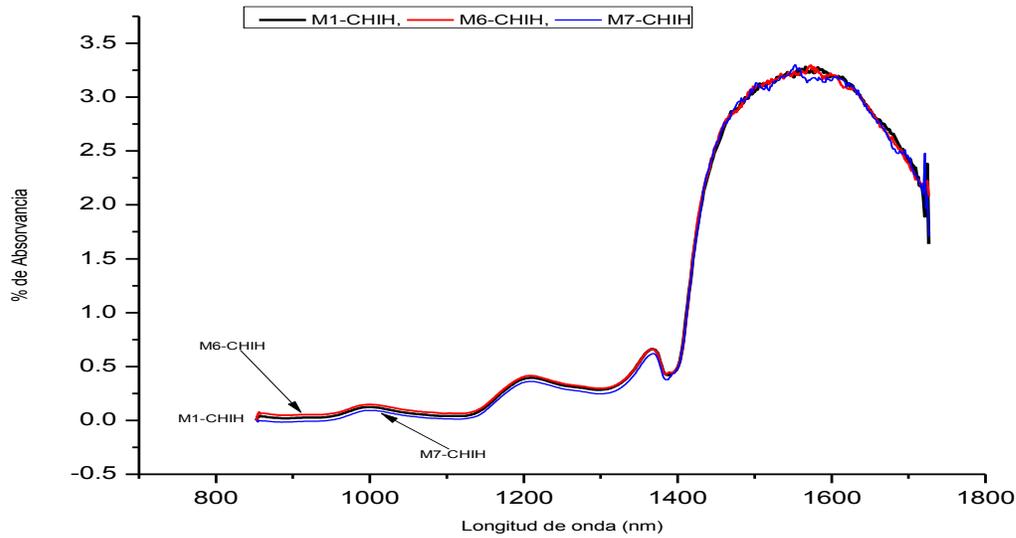
GRÁFICA 70.- PERFILES DE LOS ESPECTROS PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

Los perfiles de forma lineal corresponden a mieles cristalizadas.



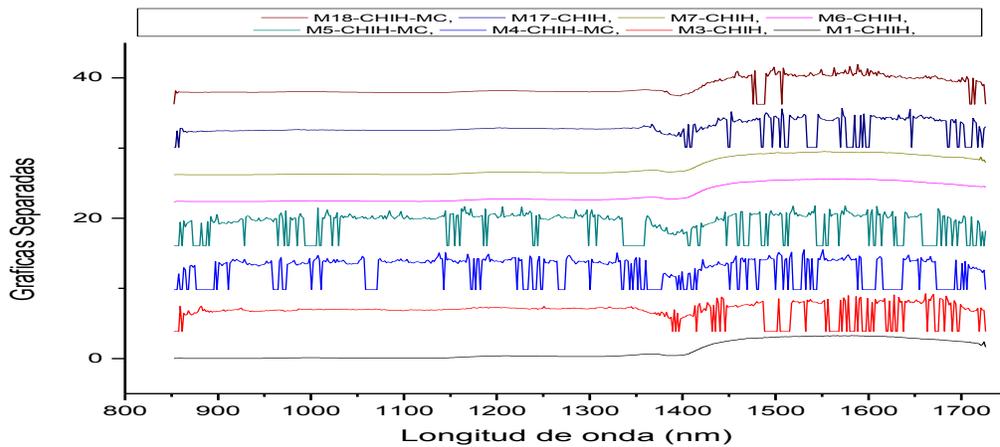
GRÁFICA 71.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

El ruido generado por las muestras cristalizadas impide una clara visión de los perfiles.



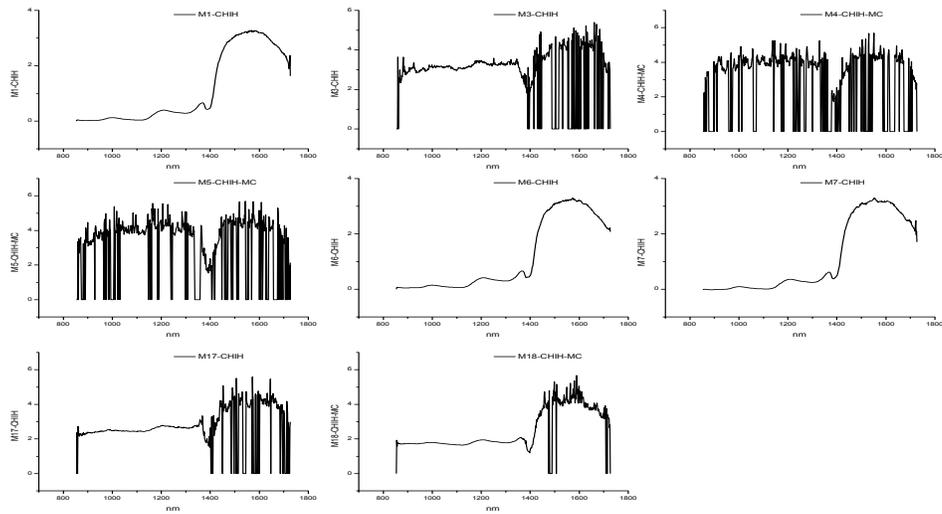
GRÁFICA 72.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

Los perfiles de estas muestras (líquidas) se observan encimadas lo que dificulta su interpretación. A continuación, se muestran las gráficas de los perfiles de los espectros separados.



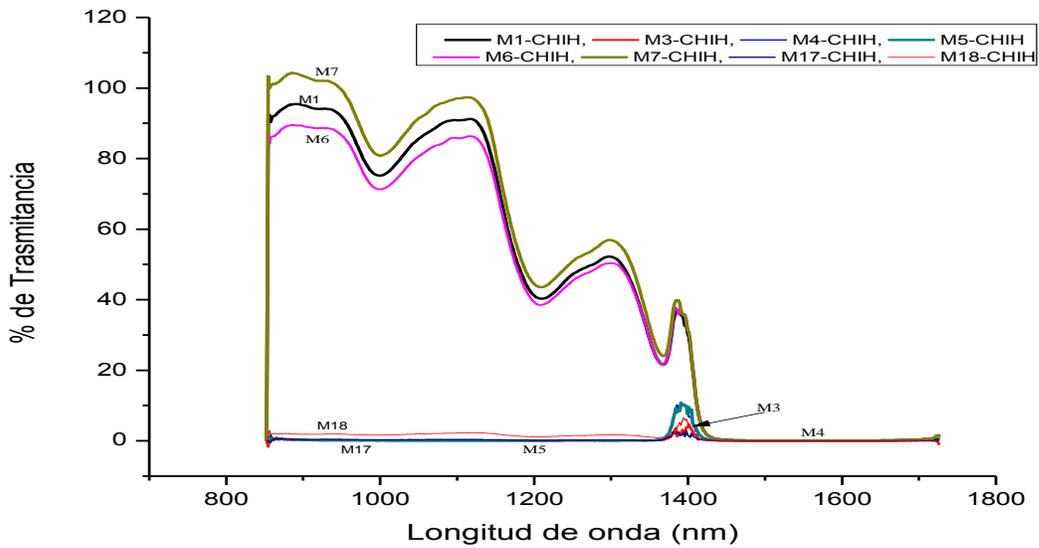
GRÁFICA 73.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

Algunas muestras presentan señales con excesivo ruido por la formación de cristales.



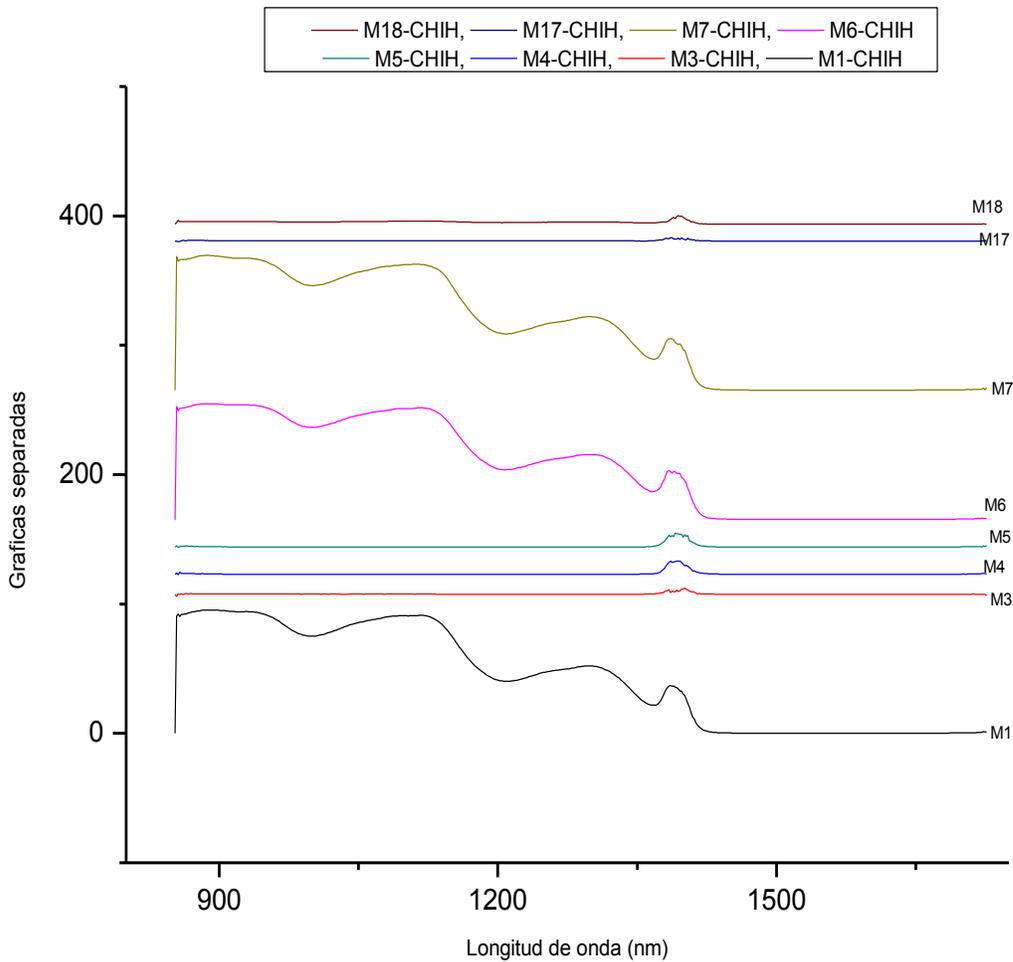
Perfiles de los espectros de absorvancia NIR para cada una de las muestras

GRÁFICA 74.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA NIR PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA. Los perfiles que presentan ruido corresponden a mieles con alto contenido de cristales o totalmente cristalizadas.

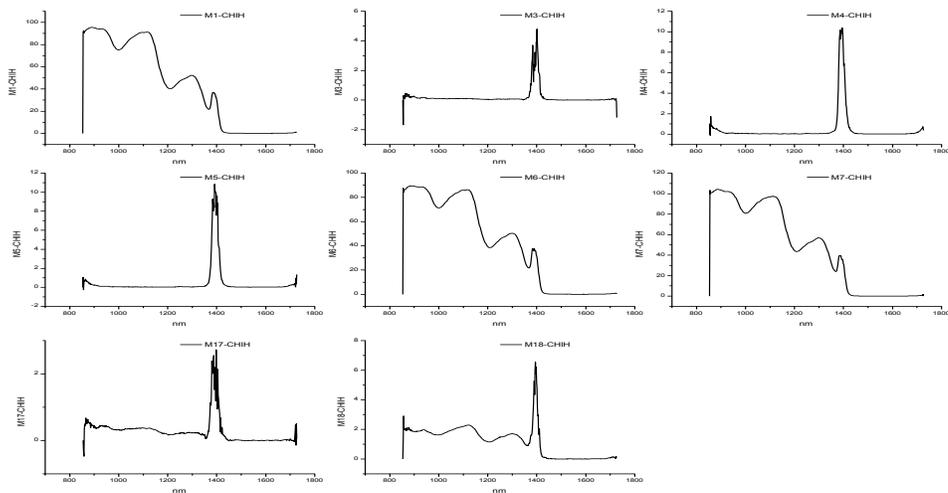


GRÁFICA 75.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRASMITANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

Las muestras M-18-CHIH, M-7-CHIH y M-5-CHIH cuyos espectros aparecen en la zona inferior de la gráfica corresponden a mieles cristalizadas, pero aun así manifiestan una cresta en la zona de los 1400 nm aprox.



GRÁFICA 76.- SEPARACIÓN DE PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRANSMITANCIA NIR DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA. La separación de los perfiles corrobora la cresta en la zona de los 1400 nm, sin que tenga efecto alguno la cristalización de la miel.

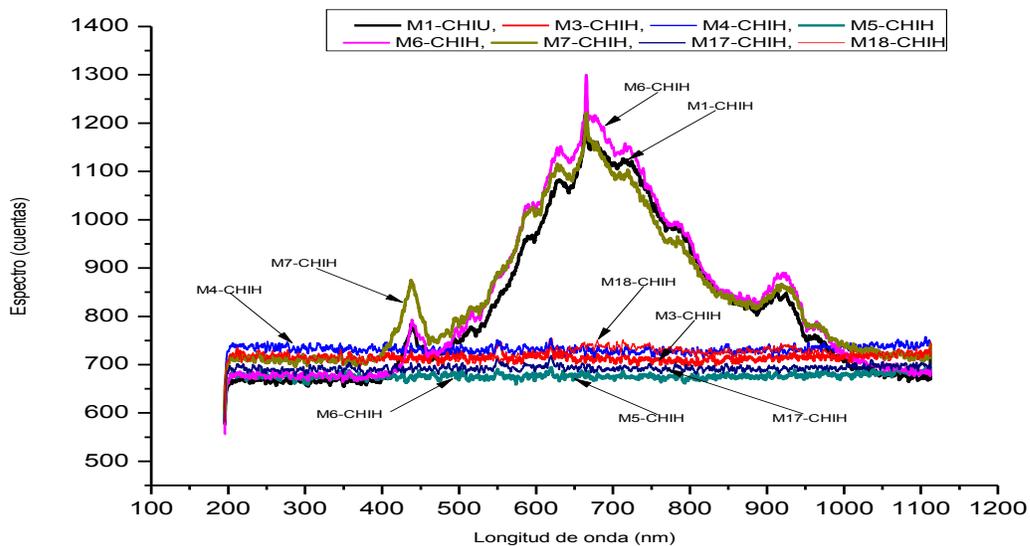


Perfiles de los espectros de Transmitancia NIR para cada una de las muestras

GRÁFICA 77.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRANSMITANCIA NIR PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

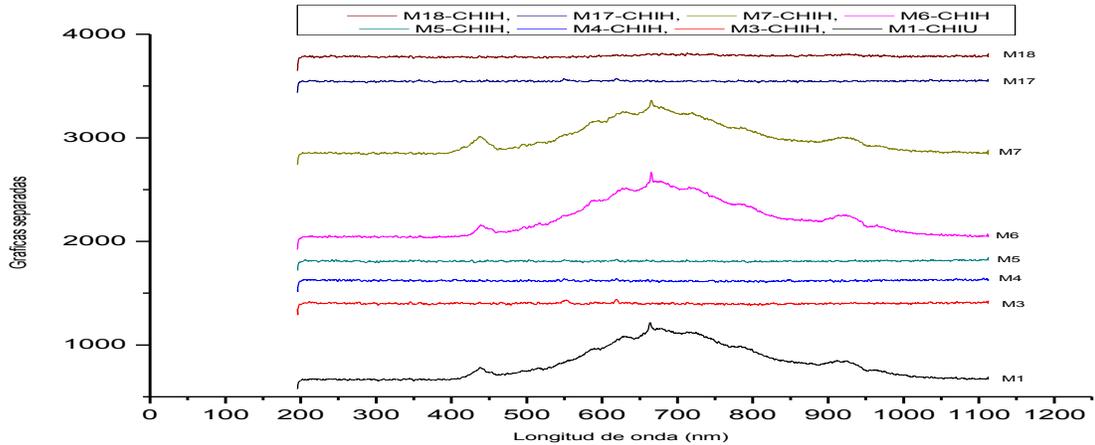
Esta gráfica (77) nos permite apreciar la diferencia en cada perfil del espectro de cada miel en particular.

En las siguientes figuras se podrá observar los diferentes perfiles de los espectros UV-Vis de las diferentes muestras de miel de Chihuahua.



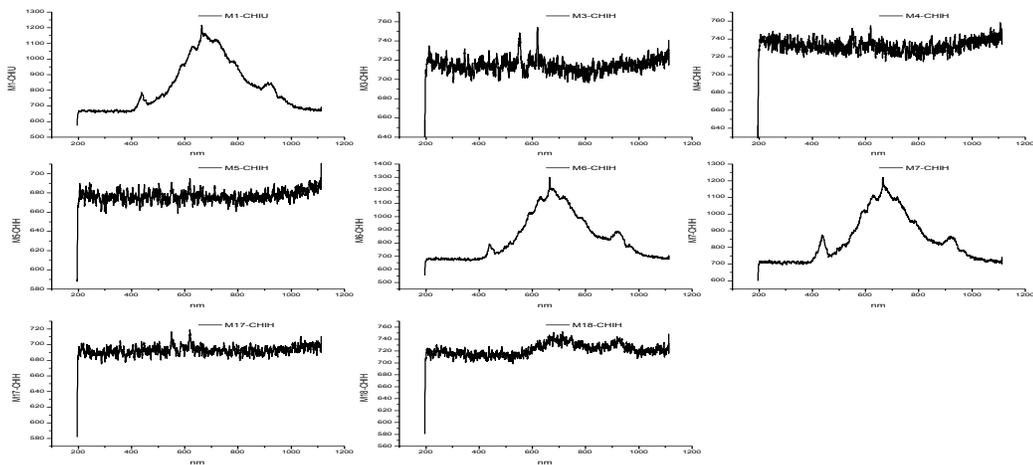
GRÁFICA 78.-PERFILES DE LOS ESPECTROS UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

En la parte inferior se puede apreciar los perfiles de los espectros de las muestras de miel cristalizadas.



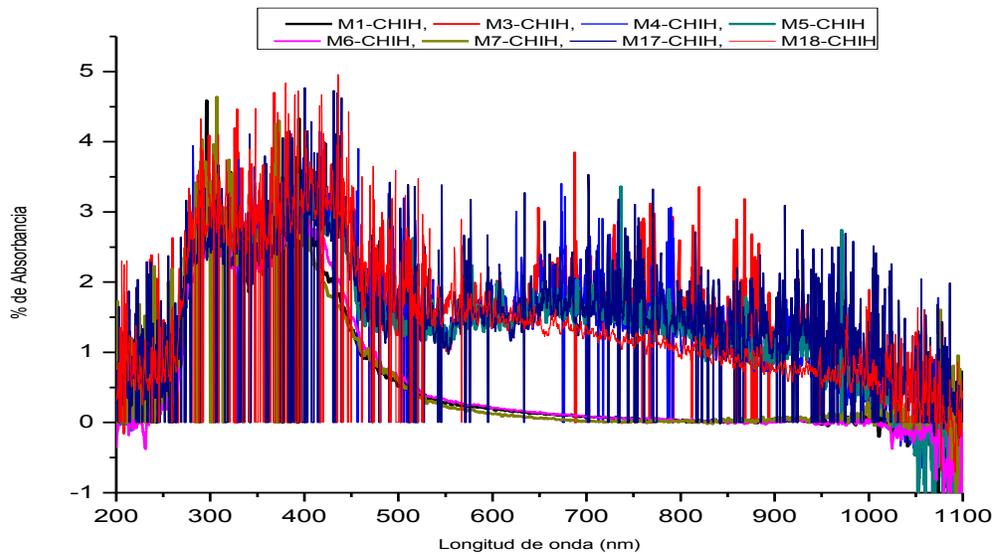
GRÁFICA 79.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS ESPECTROS UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

Los perfiles de los espectros en la zona UV-Vis muestran consistencia en estas muestras de miel que contienen Catalasa, excepto los de las mieles cristalizadas que como en cualquier zona de la región del EEM que se emplea en el presente estudio, se muestran con forma lineal.



GRÁFICA 80.- PERFILES DE LOS ESPECTROS UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

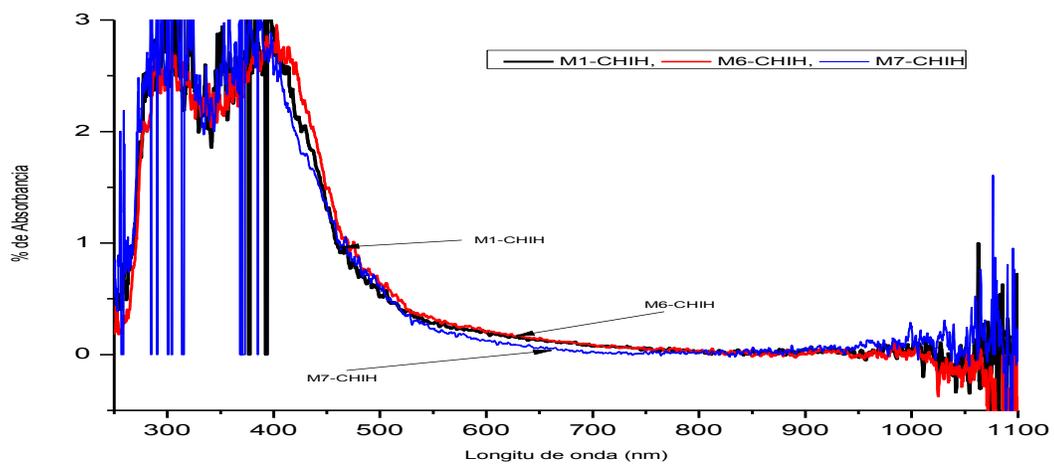
Las muestras de miel cristalizada muestran sus perfiles de espectro en forma lineal y con ruido excesivo.



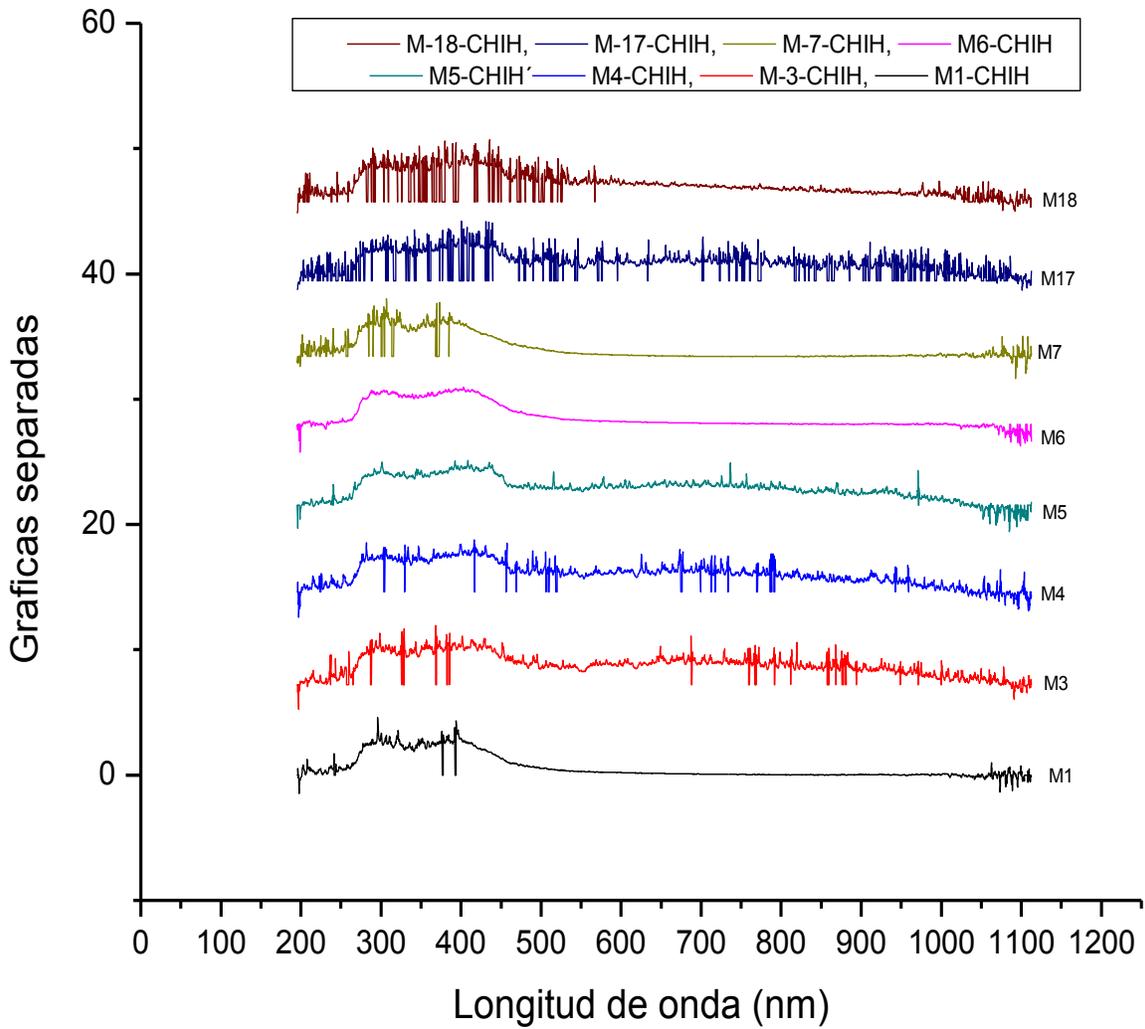
GRÁFICA 81.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

El ruido generado por los cristales de algunas de las muestras de miel no permite una visión clara de los otros perfiles.

A continuación se presenta La Absorbancia de las muestras de miel sin cristales.

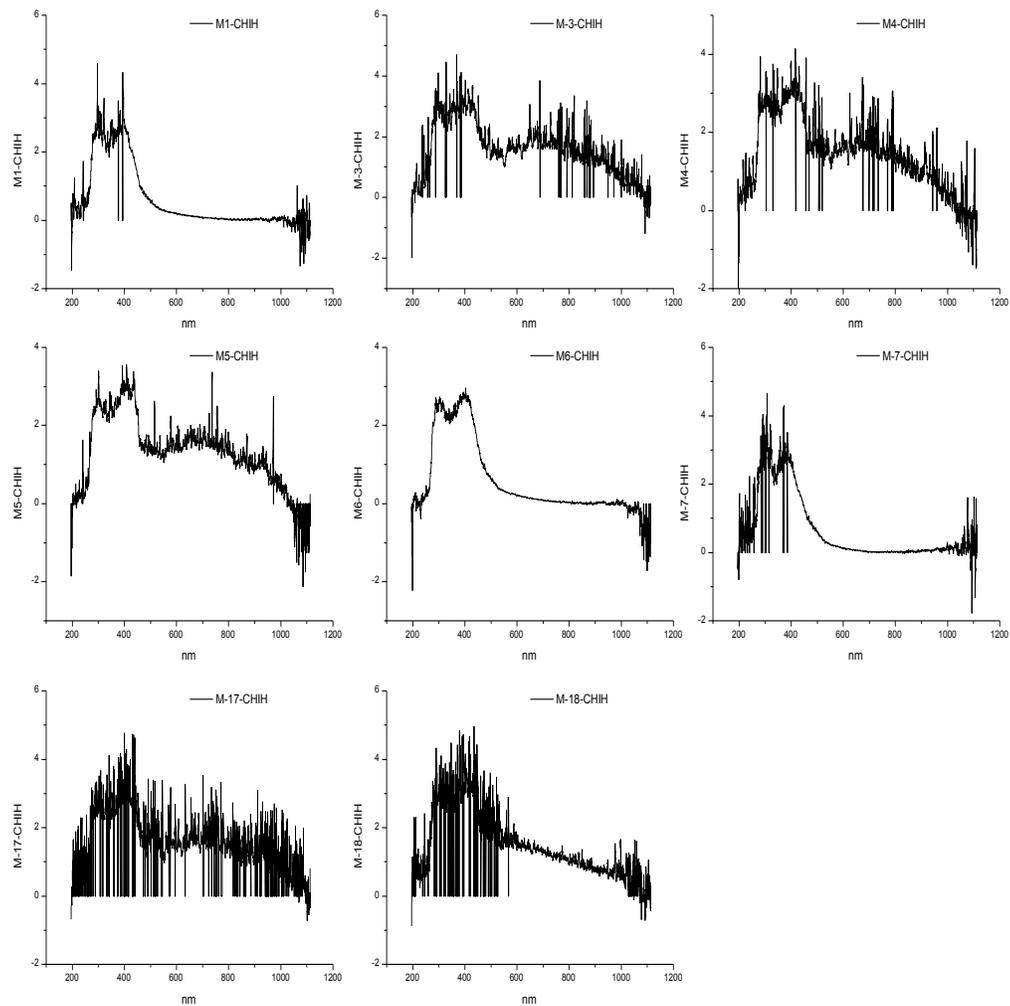


GRÁFICA 82.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA UV-VIS DE LAS MUESTRAS LÍQUIDAS (SIN CRISTALES) DE MIEL DE CHIHUAHUA.



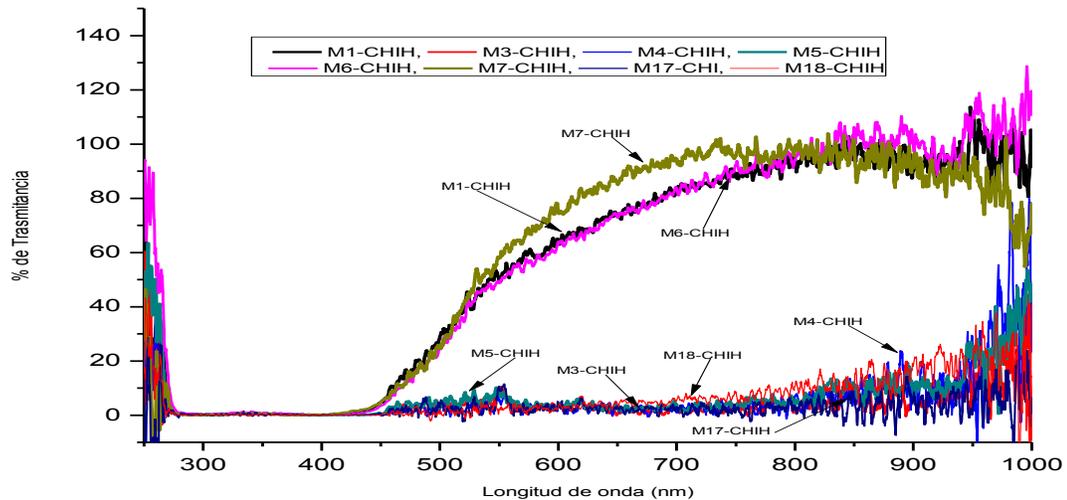
GRÁFICA 83.- SEPARACIÓN DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

Aunque todas estas muestras contienen la enzima Catalasa La condición física de líquida o cristalizada (solida) determina la cantidad de ruido generado en la señal de Absorbancia.



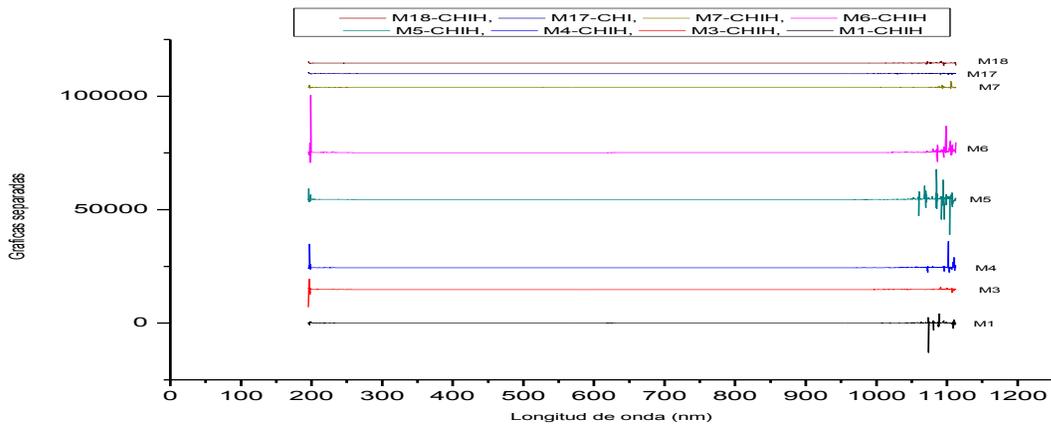
GRÁFICA 84.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE ABSORBANCIA UV-VIS PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA. La experiencia en la obtención de los datos para la elaboración de los perfiles de los espectros de la miel está influido por la condición física de la miel, es decir su estado de líquido o cristalino (sólido).

A continuación se exponen las gráficas de los perfiles de Trasmittancia para las muestras de miel de Chihuahua.



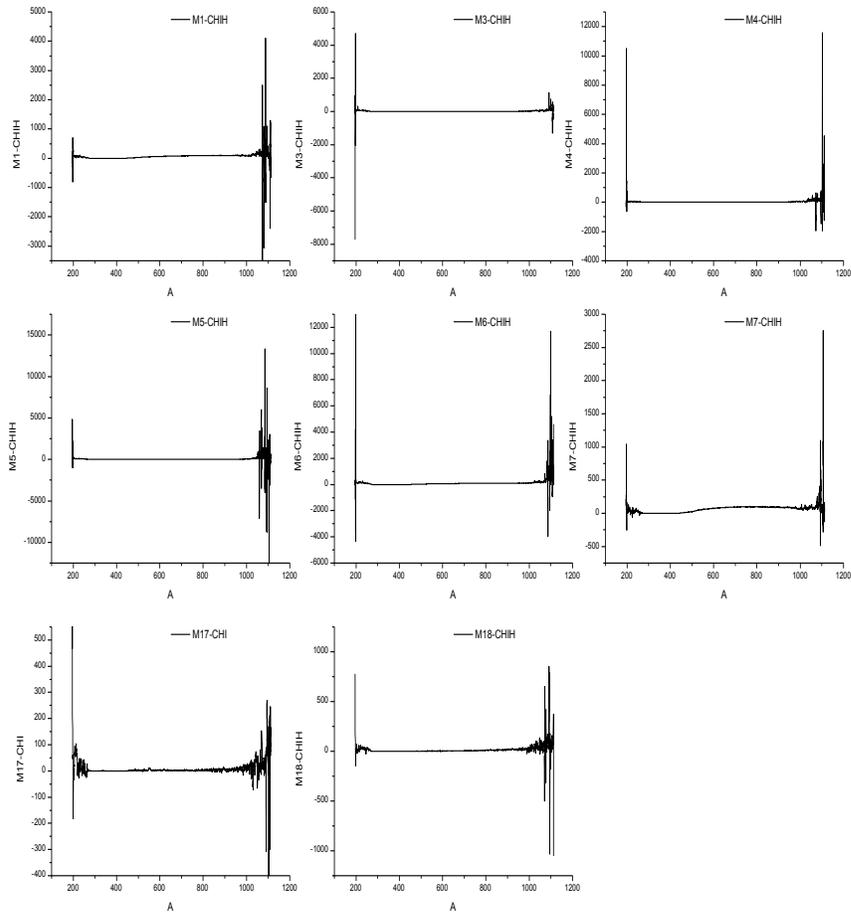
GRÁFICA 85.- PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRASMITANCIA UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

La zona UV-Vis afectada por el ruido en la señal, muchas veces influido por los cristales de miel en el seno de la misma pues en ocasiones al ser un estado en transición genera este tipo de señales.



GRÁFICA 86.- GRÁFICAS SEPARADAS DE LOS PERFILES DE LOS ESPECTROS DE TRASMITANCIA UV-VIS DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE CHIHUAHUA.

La separación de los espectros de Trasmittancia en el rango UV- Vis, no aportan información aprovechable para estas muestras analizadas.



GRÁFICA 87.- PERFILES DE LOS E ESPECTROS DE TRASMITANCIA UV-VIS PARA CADA MUESTRAS DE MIEL OBTENIDAS EN EL CONGRESO DE CHIHUAHUA. Esta gráfica corrobora los comentarios efectuados con respecto a los perfiles de los espectros de Trasmítancia en la zona UV-Vis del Espectro Electromagnético (EEM).

4.3 Determinación De Enzima Catalasa

Para la detección de la enzima Catalasa, el criterio fue agregar el Peróxido de Hidrógeno directamente a la miel, la proporción que se empleó fue uno a uno (1:1) la cual podía ser en volumen o masa (Weirich G., 2002). Las primeras pruebas no dieron los resultados que se esperaban, esto generó duda en la validez de la aplicación del método, es decir, agregar H_2O_2 directamente en miel de abejas; para asegurar que estábamos en el camino correcto se compró a través de internet (portal de amazon) la miel de MANUKA, posteriormente se procedió a la aplicación del Peróxido de hidrogeno (H_2O_2) a la miel de MANUKA, hubo que esperar 45 minutos aproximadamente para que la reacción iniciara, la prueba se efectuó en tres ocasiones con resultado positivo, por lo que se consideró correcto el criterio.

Se propuso realizar pruebas rápidas, donde únicamente se agregaría Peróxido de Hidrógeno a las muestras de miel para observar su reacción, si ésta era positiva y la muestra de miel era suficiente (250 ml) se llevaría a cabo la cuantificación del Oxígeno producto de la reacción del Peróxido de Hidrógeno.

Existe evidencia de que el método funciona en papa, hígado de pollo y organismo de *Apis Mellifera* (González Yoval, Jiménez Arnda, García Morales, y Rodriguez segura, & Leuman, 2015), (Weirich G., 2002), ahora el trabajo sería obtener evidencia de la existencia de enzima Catalasa en las muestras de mieles mexicanas. Iniciamos la búsqueda de acuerdo a lo citado en los objetivos particulares, es decir, muestras de miel de Cazahuate (*Ipomoea Murucoides*), no mostró evidencia de Catalasa; Mangle (*Rizophora Mangle*) sí mostró evidencia de Catalasa y Cítrico (*Citrus*) no mostró evidencia de Catalasa.

La primera zona fue la costa del Pacífico donde se adquirieron cuatro muestras de miel de Mangle, otras muestras se obtuvieron en el estado de Morelos y en diferentes Congresos Internacionales de Actualización Apícola celebrados en la República Mexicana (ver páginas 28-32).

NOTA 6: El Equipo y material empleado para la detección y cuantificación de Catalasa se detallan en el apéndice A.

Experimentos y pruebas



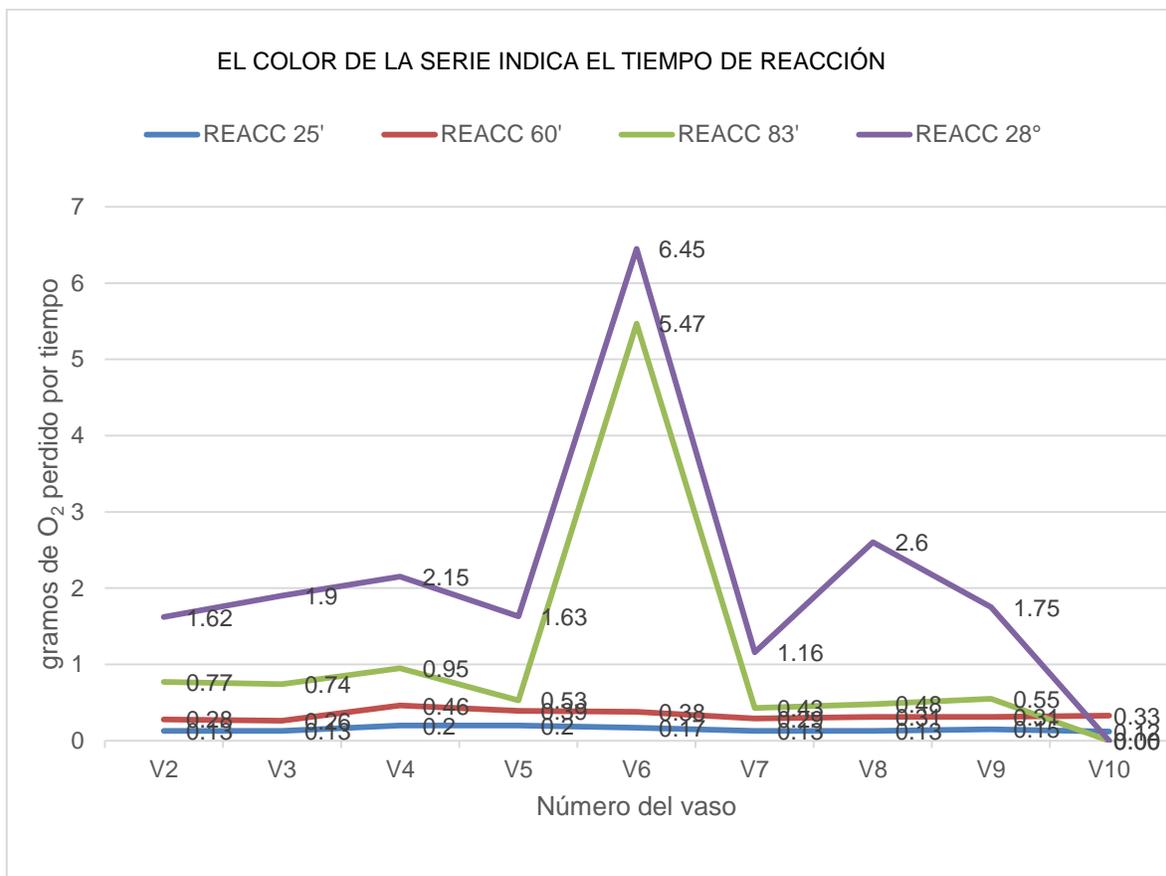
IMAGEN 5.- PRIMERA EVIDENCIA DE LA REACCIÓN DE H_2O_2 POR LA ACCIÓN DE LA CATALASA PRESENTE EN MIEL DE ABEJAS APIS MELLIFERA.

La imagen corresponde a la muestra **M-MAG-II** elaborada por las abejas con néctar de flores de Mangles de la costa Pacífico del estado de Sinaloa en la comunidad del Rosario.

A continuación, se muestra la tabla de los resultados de las “pruebas rápidas” para detección de Catalasa.

TABLA 11.- DISMINUCIÓN DE PESO EN PRUEBAS DE MIEL POR PÉRDIDA DE OXÍGENO DURANTE LA SÍNTESIS CATALASA- PERÓXIDO DE HIDRÓGENO.

OXIGENO PRODUCIDO POR SÍNTESIS CATALAZA-PERÓXIDO DE HIDRÓGENO										
Vaso No.	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10
Vaso cap en ml	140.00	140.00	140.00	140.00	140.00	140.00	140.00	140.00	140.00	140.00
Vaso en gr	68.12	66.14	66.12	65.24	64.38	73.24	65.53	69.65	66.00	63.85
H ₂ O ₂ en gr	0.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Miel en gr	0.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Miel+H ₂ O ₂ en gr	0.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00
Vaso+Miel + H ₂ O ₂ en gr	0.00	106.14	106.12	105.24	104.38	113.24	105.53	109.65	106.00	103.85
25'-perd gr	0.00	0.13	0.13	0.2	0.2	0.17	0.13	0.13	0.15	0.12
60'-perd gr	0.00	0.28	0.26	0.46	0.39	0.38	0.29	0.31	0.31	0.33
83'-perd gr	0.00	0.77	0.74	0.95	0.53	5.47	0.43	0.48	0.55	0.00
28°-perd gr	0.00	1.62	1.9	2.15	1.63	6.45	1.16	2.6	1.75	0.00



25'-perd gr	0.00	0.13	0.13	0.2	0.2	0.17	0.13	0.13	0.15	0.12
60'-perd gr	0.00	0.28	0.26	0.46	0.39	0.38	0.29	0.31	0.31	0.33
83'-perd gr	0.00	0.77	0.74	0.95	0.53	5.47	0.43	0.48	0.55	0.00
28°-perd gr	0.00	1.62	1.9	2.15	1.63	6.45	1.16	2.6	1.75	0.00

GRÁFICA 88.- GRÁFICA Y TABLA DE PRODUCCIÓN DE OXÍGENO EN GAMOS A DIFERENTES TIEMPOS, DURANTE LA SÍNTESIS CATALASA-PERÓXIDO DE HIDRÓGENO.

La siguiente imagen muestra el arreglo para cuantificar el volumen del Oxígeno liberado por H_2O_2 y la velocidad de la reacción.

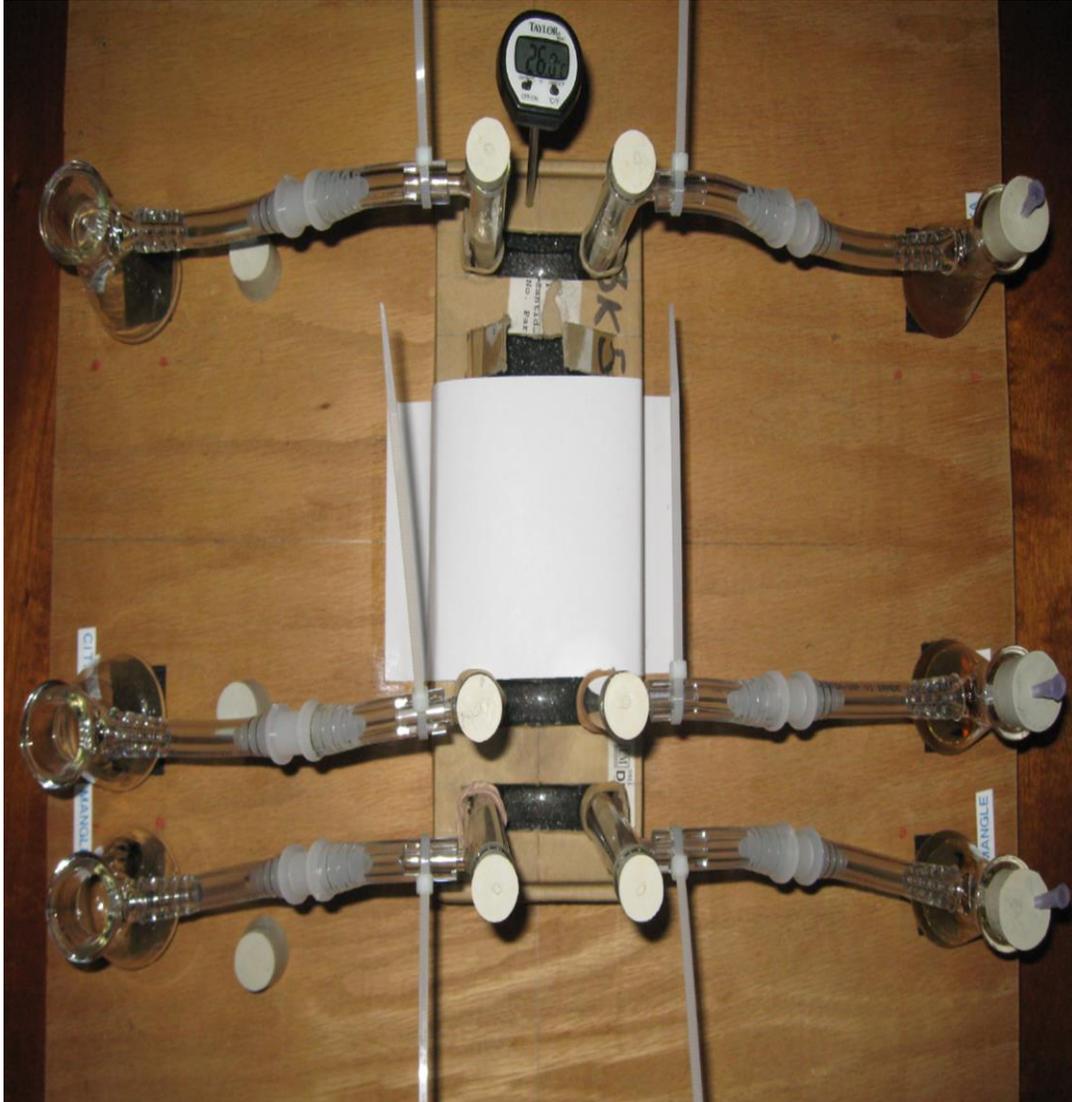


IMAGEN 6.- VISTA SUPERIOR DEL ARREGLO EXPERIMENTAL PARA DETERMINAR EL VOLUMEN DE O_2 POR LA REACCIÓN DEL PERÓXIDO DE HIDROGENO (H_2O_2) ANTE CATALASA PRESENTE EN LA MIEL DE ABEJAS APIS MELLIFERA.

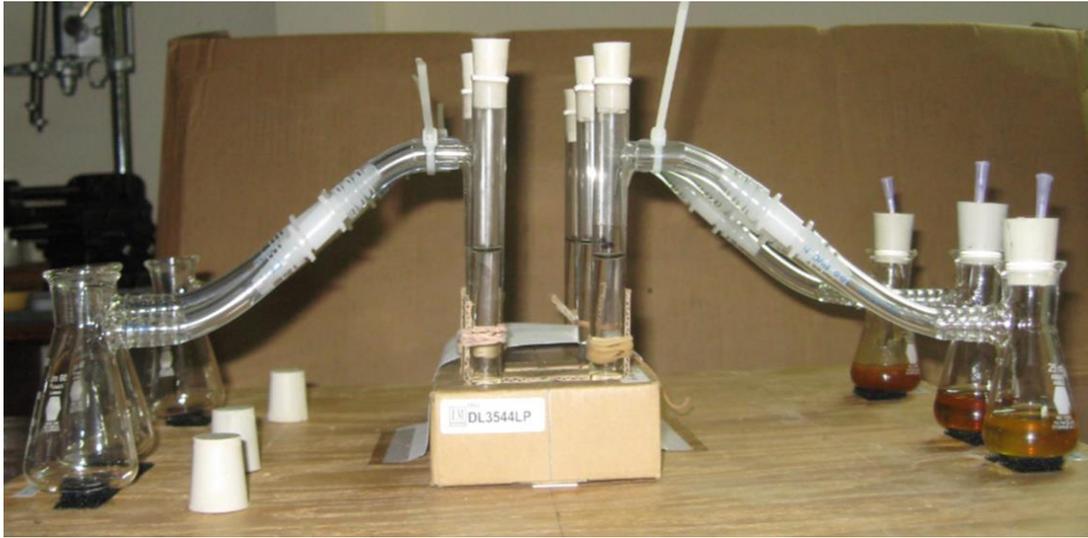


IMAGEN 7.- MATRACES KITASATO CON LOS TRES TIPOS DE MIEL AL FRENTE LA MIEL DE MANUKA, EN MEDIO LA MUESTRA DE MIEL DE CÍTRICO Y AL FONDO LA MIEL DE MANGLE (M-II).



IMAGEN 8.- MUESTRAS DE MIEL CON EL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO ADICIONADO.



IMAGEN 9.- REACCIÓN EN LAS MUESTRAS DE MIEL DE MANGLE (M-II) (EN PRIMER PLANO), CÍTRICO (EN EL MEDIO) Y MANUKA (AL FONDO).

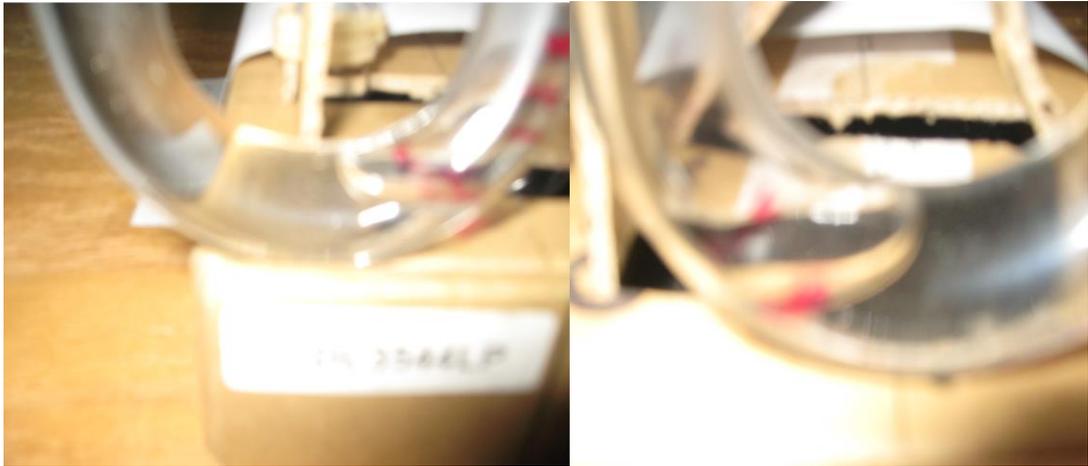


IMAGEN 10.- COMPARATIVO DEL DESPLAZAMIENTO DE LOS MENISCOS GENERADOS POR LA ACCIÓN DEL OXÍGENO LIBERADO POR EFECTO DE LA REACCIÓN CATALASA- PERÓXIDO DE HIDRÓGENO, SOBRE EL VOLUMEN DE AGUA CONTENIDA EN LOS TUBOS "U" DEL ARREGLO.

Desarrollo de la prueba para cuantificar el volumen de O₂ producido por la síntesis de la Catalasa y el Peróxido de Hidrógeno presente en la miel de abejas (*Apis Mellifera*) en arreglo de los matraces y tubos “U” (imágenes de 6 a 10).

Al interior de los matraces Kitasato, se colocó 10 ml de miel posteriormente fue sellado con tapones de caucho a través de los que insertó una aguja de jeringa para posteriormente poder agregar 10 ml. de Peróxido de Hidrógeno, para la unión de los matraces con los tubos “U” (a los que se llenó con agua) se emplearon conectores de plástico y mangueras de silicona a uno y otro lado de los conectores de los tubos “U” en el otro extremo (salida) de los tubos “U” se colocaron otros matraces Kitasato para recoger el agua desplazada por el gas Oxígeno todas las uniones (tapones, conectores, mangueras y las agujas de jeringa) fueron selladas con vendaje de papel Parafilm con el propósito de reducir al mínimo posible las fugas de Oxígeno (O₂). Un termómetro fue acoplado al arreglo y los tiempos fueron cronometrados con el propósito de poder realizar los cálculos de velocidad de la reacción para las muestras de miel, Manuka y Mangle M-MANG-II.

Con los datos de la síntesis obtenidos mediante el arreglo experimental de la imagen 2, se construyeron las siguientes tablas:

TABLA 12.- DATOS DE LA PRODUCCIÓN DE O₂ POR LA ACCIÓN DE LA CATALASA DE LA MIEL SOBRE EL H₂O₂, EN MIEL DE MANUKA.

DATOS DE O₂ OBTENIDOS EN MIEL DE MANUKA			
Miel en ml.	H₂O₂ en ml.	Tiempo de reacción	O₂ obtenido en cm³
10	10	00°35'	3.167
		8°16'	4.411
		17°32'	5.089
		24°15'	8.369
		26°37'	8.369

TABLA 13.- DATOS DE PRODUCCIÓN DE O₂ POR LA ACCIÓN DE LA CATALASA DE LA MIEL SOBRE EL H₂O₂, EN MIEL DE MANGLE M2-SINA.

DATOS DE O₂ OBTENIDOS EN MIEL DE MANGLE, M2-SINA.			
Miel en ml.	H₂O₂ en ml.	Tiempo de reacción	O₂ obtenido en cm³
10	10	00°35'	4.072
		08°18'	7.351
		17°32'	9.048
		24°15'	9.048
NOTA: para el presente cálculo se consideró la densidad del H₂O₂ igual a 1g/cm³			

Para conocer el volumen y velocidad de la reacción Catalasa-H₂O₂ se empleara el *Cálculo Estequeométrico* que permite cuantificar (en una reacción química) las sustancias existentes y la(s) sustancia(s) producto(s), como es el caso del presente trabajo en la miel de las abejas Apis Mellifera.

Para la ejecución del cálculo estequeométrico, se recomienda tener al menos 100 ml de miel y para la ejecución de todas las pruebas al menos 250 ml de miel.

NOTA: El primero que enunció los principios de la estequiometria fue Jeremias Benjamin Richter (1762-1807), en 1792, quien describió la estequiometria de la siguiente manera: «La estequiometria es la ciencia que mide las proporciones cuantitativas o relaciones de masa de los elementos químicos que están implicados (en una reacción química).

En la siguiente tabla se muestran las ecuaciones empleadas para efectuar los cálculos de la presente investigación.

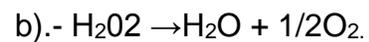
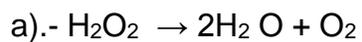
TABLA 14.- ECUACIONES EMPLEADAS PARA EL CÁLCULO DE VOLUMEN Y EL CÁLCULO ESTEQUEOMÉTRICO EN EL PRESENTE TRABAJO.

ECUACIONES PARA LOS CÁLCULOS REALIZADOS EN LA PRESENTE INVESTIGACIÓN				
No.	APLICACIÓN	ECUACIÓN	SIGNIFICADO DE LITERALES	
1.-	Cálculo del vol. de O ₂	$PV = nRT$	P=Presión V=Volumen	n = núm. de moles R = Cte. gases = 0.08206 atm L/mol °K T =Temperatura °K
2.-	Cálculo II del vol. de O ₂	$\pi.r^2.h$	$\pi =3.14159$	$r^2 = \text{cm}^2$ h = cm
3.-	Cálculo estequeométrico	Conversión de gamo a mol: (g. dados) x (1 mol del compuesto/peso molecular) Conversión de mol a gamo: (moles dadas) x (peso molecular/1 mol del compuesto)		

CONSIDERACIONES PARA EL CÁLCULO ESTEQUEOMÉTRICO

I.- Por efecto enzimático de Catalasa, se tiene la reacción: $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

II.- Para cálculos primero se balanceó la ecuación, dando dos posibles ecuaciones:



III.- Para este caso se usará la ecuación b).- $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + 1/2\text{O}_2$.

IV.- Consideramos el peso específico del peróxido de hidrógeno como 1g/cm^3 .

V.- Consideramos la masa molar del Hidrógeno = 1g/mol .

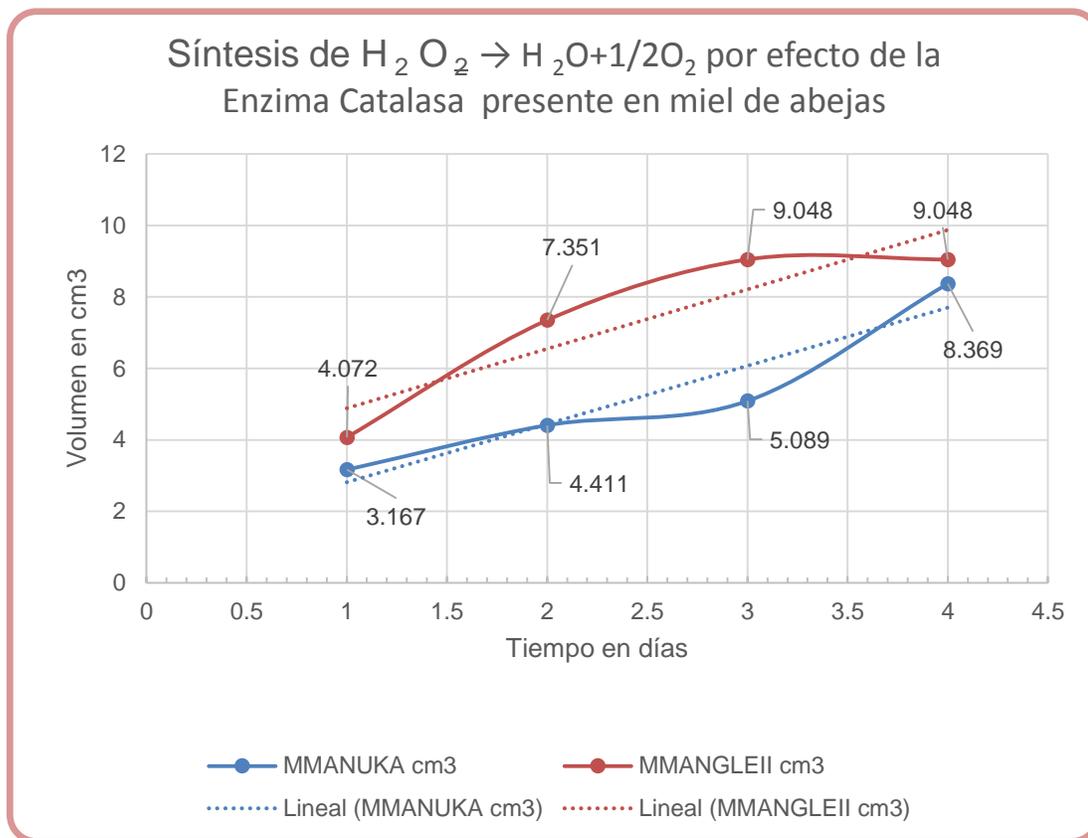
VI.- Consideramos la masa molar del Oxígeno = 16g/mol .

VI.- Consideramos la densidad del $\text{O}_2 = 1.43\text{Kg/cm}^3$.

TABLA 15.- CÁLCULO ESTEQUIOMÉTRICO DE REACCIÓN DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO POR EFECTO DE LA ENZIMA CATALASA EN MIEL DE ABEJA APIS MELLIFERA.

CÁLCULO ESTEQUIOMÉTRICO DE LA CATALIZACIÓN DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO POR TRABAJO DE LA ENZIMA CATALAZA					
DATOS DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO					
H ₂ O ₂ EN MOLES	H ₂ O EN MOLES	O ₂ EN MOLES	H ₂ O ₂ EN gr.	H ₂ O EN gr.	O ₂ EN gr.
0.294117647	0.294117647	0.147058824	10	5.294	4.706
MIEL DE MANUKA					
MIEL EN ml.	H ₂ O ₂ EN ml.	TIEMPO (Hr.-min.)	O ₂ EN cm. ³		
10	10	00°35'	3.167		
		08°18'	4.411		
		17°32'	5.089		
		24°15'	8.369		
		26°37'	8.369		
PRODUCCIÓN DE O₂ EN MIEL DE MANUKA					
TIEMPO	M MANUKA cm ³	PESO gr.			
00°35'	3.167	4.52881			
08°18'	4.411	6.30773			
17°32'	5.089	7.27727			
24°15'	8.369	11.96767			
26°37'	8.369	11.96767			
MIEL DE MANGLE M2-SINA					
MMIEL EN ml.	H ₂ O ₂ EN ml.	TIEMPO (Hr.-min.)	O ₂ EN cm. ³		
10	10	00°35'	4.072		
		08°18'	7.351		
		17°32'	9.048		
		24°15'	9.048		
PRODUCCIÓN DE O₂ MIEL DE MANGLE M2-SINA					
TIEMPO	MANGLE M2-SINA cm ³	PESO gr.	DENSIDAD O ₂		
00°35'	4.072	5.82296	1.43		
08°18'	7.351	10.51193			
17°32'	9.048	12.93864			
24°15'	9.048	12.93864			

Se considera que la mayor cantidad de producto corresponde al Oxígeno, dado que puede existir alguna otra especie de gas que no se ha podido determinar porque no se cuenta con un equipo especializado para tal fin tal como un cromatógrafo de gases.



GRÁFICA 89.- VELOCIDAD DE GENERACIÓN DE OXÍGENO EN FUNCIÓN DEL TIEMPO EN LA CINÉTICA DE H_2O_2 POR PRESENCIA DE LA ENZIMA CATALASA

La gráfica exhibe la producción de O_2 en las muestras de miel M-MANG-II procedente de la costa Pacífico de Sinaloa VS la muestra de miel de M-MANUKA procedente de Nueva Zelanda.

Ambas muestras de miel son elaboradas por abejas europeas *Apis Mellifera*; pero las fuentes de néctar son diferentes, la Miel de Manuka (línea inferior) procede del néctar de la planta Manuka (*Leptospermum scoparium*) y la miel de Mangle M-MANG-II (línea superior) proviene principalmente de Mangle (*Avicennia germinans*) (de acuerdo con la información proporcionada por el productor, dado que es la especie con mayor producción de néctar).

Nota: ver tabla de trabajos futuros.



MANGLE M-II vs M-MANUKA

IMAGEN11.- REACCIÓN DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO POR ACCIÓN DE LA CATALASA EN MUESTRAS DE MIEL DE MANUKA Y MANGLE M-II.

Con referencia a la enzima Catalasa podemos clasificar las mieles en “Catalasa-positivas” y “Catalasa-negativas” (CAT+ y CAT-) respectivamente, en función de si la miel contiene o no dicha enzima.

Capítulo 5. Variables que conducen a la identificación de mieles con Catalasa.

5.1 Datos obtenidos del estudio por la detección de Enzima Catalasa en miel de abejas europeas *Apis Mellifera*.

Los datos obtenidos como resultado del trabajo de investigación para la detección de enzima Catalasa en miel producida por abejas europeas *Apis Mellifera* en la República Mexicana se presentan en este capítulo para facilitar la explicación de los resultados.

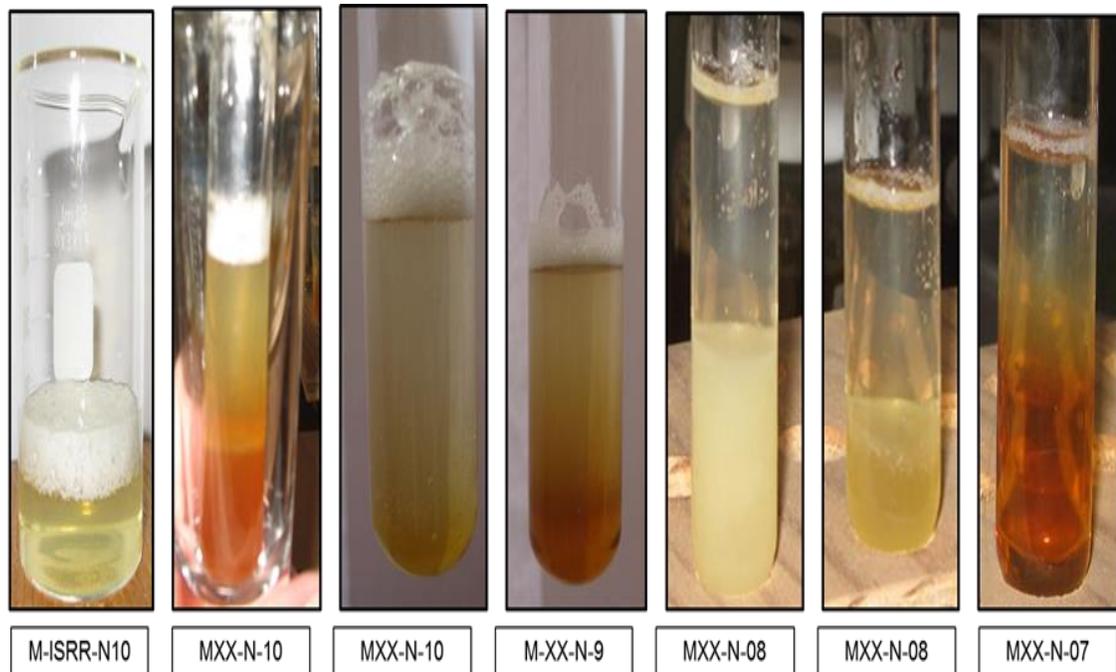


IMAGEN12.- ESCALA DE MEDICIÓN POR CONTENIDO –APARENTE- DE CATALAZA EN MIEL DE ABEJAS EUROPEAS *APIS MELLIFERA*.

Las siguientes tablas nos muestran los datos de las variables analizadas de las muestras de miel en el presente estudio y son una selección de algunos de los parámetros indicados en la NMX-F-036-981.

TABLA 16.- RESULTADOS DE LAS VARIABLES MEDIDAS Y/O EVALUADAS PARA LA MUESTRA DE MIEL MANGLE M-II PROCEDENTE DE EL ROSARIO SINALOA VS LA MIEL DE MANUKA PROCEDENTE DE NUEVA ZELANDA.

DATOS DE MIEL M-MANG-II MANUKA QUE CONTIENEN CATALASA							
CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSI DAD g/cm³	D20/20 g/cm³	HUME DAD % PESO	pH	CAT S/AGIT	CAT C/AGIT
M- MANG-II	80.0	1.399	1.402	20.1	2.93	SI-N-10	SI-N10
MANUK A	80.6	1.405	1.408	19.4	4.1	SI	SI-N9

TABLA 17.- RESULTADOS DE LAS VARIABLES MEDIDAS Y/O EVALUADAS PARA LA MUESTRA DE MIEL OBTENIDA DIRECTAMENTE DE PRODUCTORES DEL ESTADO DE MORELOS (PRIMERA COSECHA DEL AÑO 2015, DURANTE LOS MESES DE MARZO-ABRIL).

DATOS DEL PRIMER GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS DIRECTAMENTE DE PRODUCTORES EN EL EDO. DE MORELOS 2015							
CLAVE	SÓLI DOS % PESO	DENSIDA D g/cm³	D20/20 g/cm³	HUME DAD % PESO	pH	CAT S/AGITAR	CAT C/AGIT
M- AGTE	85.3	1.432	1.435	14.9	3.87	SI	SI-N9
M-ISRR	84.2	1.428	1.431	15.8	2.79	SI	SI-N10

M- EDUA	82.5	1.416	1.419	17.8	2.82	SI	SI-N9
M-UNI	81.8	1.413	1.415	18.2	3.18	SI	SI-N9

TABLA 18.- RESULTADOS DE LAS VARIABLES MEDIDAS Y/O EVALUADAS PARA LA MUESTRA DE MIEL OBTENIDA EN EL CONGRESO DE MICHOACÁN. LAS MUESTRAS SON DE DIFERENTES COSECHAS Y PROCEDEN DE DIFERENTES ESTADOS DE LA REPÚBLICA MEXICANA.

DATOS DEL TERCER GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS EN EL XXIV CONGRESO INTERNACIONAL DE ACTUALIZACIÓN APÍCOLA CELEBRADO EN MORELIA, MICHOACAN 2017

CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD g/cm³	D20/20 g/cm³	HUMEDAD % PESO	pH	CAT S/AGIT	CAT C/AGIT
M8	80.7	1.406	1.408	19.3	3.28	SI	SI-N8
M11	80.2	1.416	1.419	17.8	3.91	SI	SI-N8
M20	81.2	1.409	1.411	18.8	2.85	SI	SI-N7

TABLA 19.- VARIABLES MEDIDAS Y/O EVALUADAS PARA LAS MUESTRAS DE MIEL OBTENIDAS EN EL CONGRESO DE QUERÉTARO 2018. LAS MUESTRAS PROCEDEN DE DIFERENTES ESTADOS DE LA REPÚBLICA MEXICANA.

DATOS DEL CUARTO GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS EN EL XXV CONGRESO INTERNACIONAL DE ACTUALIZACIÓN APÍCOLA CELEBRADO EN QUERETARO EN EL AÑO 2018

CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD % PESO	pH	CAT S/AGIT	CAT C/AGIT
M2	79.1	1.393	1.396	20.9	1.60	SI	SI-N10
M18	82.6	1.420	1.420	17.5	3.29	SI	SI-N9
M20	84.8	1.431	1.434	15.2	*	SI	SI-N10

TABLA 20.- RESULTADOS DE LAS VARIABLES MEDIDAS Y/O EVALUADAS PARA LA MUESTRA DE MIEL OBTENIDA EN EL CONGRESO DE CHIHUAHUA.

DATOS DEL CUARTO GRUPO DE MUESTRAS DE MIEL, OBTENIDAS EN EL XXVI CONGRESO INTERNACIONAL DE ACTUALIZACIÓN APÍCOLA CELEBRADO EN CD. JUÁREZ, CHIH. EN EL AÑO 2019

CLAVE	SÓLIDOS % PESO	DENSIDAD g/cm ³	D20/20 g/cm ³	HUMEDAD % PESO	pH	CAT S/AGIT	CAT C/AGIT
M1	81.5	1.412	1.413	18.5	4.39	SI-N8	SI-N10
M3	81.7	1.413	1.415	18.3	2.06	SI-N8	SI-N8
M4	81.0	1.407	1.410	19.1	3.40	NO	SI-N10
M5	81.9	1.413	1.416	18.2	4.91	NO	SI-N9

M6	83.7	1.425	1.428	16.4	3.59	SI-N10	SI-N10
M7	83.9	1.427	1.429	16.1	3.91	SI-N8	SI-N8
M17	83.5	1.424	1.426	16.6	4.70	SI-N8	SI-N8
M18	81.6	1.412	1.415	18.4	3.30	SI-N8	SI-N8

Nota: las muestras son de diferentes cosechas y proceden de diferentes estados de la república mexicana.

La siguiente tabla presenta por estado, la cantidad de muestras de miel analizadas y que no presentaron evidencia de contener enzima Catalasa.

TABLA 21.- ESTADOS Y NÚMERO DE MUESTRAS ANALIZADAS QUE NO PRESENTARON EVIDENCIA DE CONTENER ENZIMA CATALASA.

MUESTRAS DE OTROS ESTADOS QUE SE ANALIZARON SIN RESULTADOS POSITIVOS DE CATALASA					
ESTADO	MUESTRAS POR NIVEL DE CONTENIDO DE CATALASA				MUESTRAS ANALIZADAS POR ESTADO
	N-10	N-9	N-8	N-7	
AGUAS CALIENTES	X	X	X	X	3
BAJA CALIFORNIA	X	X	X	X	1
COAHUILA	X	X	X	X	1
DURANGO	X	X	X	X	1
GUANAJUATO	X	X	X	X	2
MICHOACÁN	X	X	X	X	1
NAYARIT	X	X	X	X	1
NUEVO LEÓN	X	X	X	X	1
PUEBLA	X	X	X	X	1
QUERÉTARO	X	X	X	X	1
TABASCO	X	X	X	X	9
TAMAULIPAS	X	X	X	X	1
VERACRUZ	X	X	X	X	1

ZACATECAS	X	X	X	X	1
TOTALES					
14 ESTADOS	X	X	X	X	25

A continuación, se muestra el mapa de la República Mexicana señalado que nos permite apreciar la ubicación, por estado, del origen de las muestras de miel analizadas en el presente trabajo.

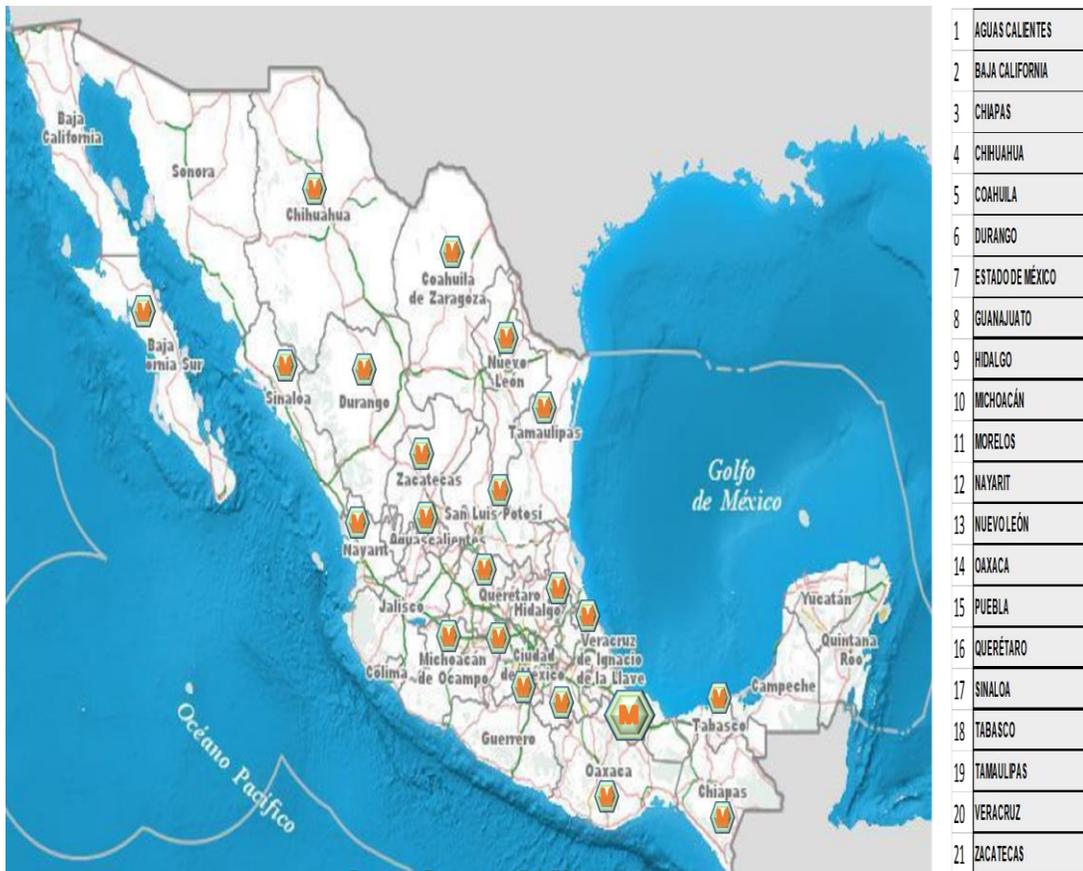


IMAGEN 13.- MAPA DE LA REPÚBLICA MEXICANA SEÑALIZADO POR ESTADO PARA UBICAR LA PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS DE MIEL ESTUDIADAS EN EL PRESENTE TRABAJO.

Fuente: Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (INEGI, s.f.)

La tabla presentada a continuación muestra por estado la cantidad de muestras de miel analizadas vs la cantidad de muestras que dieron positivo en su contenido de enzima Catalasa, mediante el método desarrollado en el presente trabajo.

TABLA 22.- NÚMERO DE MUESTRAS DE MIEL QUE CONTIENEN CATALASA Y TOTAL DE MUESTRAS ANALIZADAS POR ESTADO.

ESTADO	NIVEL DE CONTENIDO DE CATALASA				MUEST. C/ CAT	MUEST. ANALIZ
	N-10	N-9	N-8	N-7		
CHIAPAS	1	0	1	0	2	3
CHIHUAHUA	0	0	3	0	3	8
ESTADO DE MÉXICO	1	1	0	0	2	2
HIDALGO	0	0	2	0	2	5
MORELOS	1	3	0	0	4	5
OAXACA	1	0	0	1	2	8
SINALOA	1	0	0	0	1	3
7 ESTADOS	5	4	6	1	16	34

Este segundo mapa de la República Mexicana, nos permite ubicar los estados de donde proceden las muestras de miel de abejas europeas *Apis Mellifera* que en el presente trabajo evidenciaron contenido de enzima Catalasa

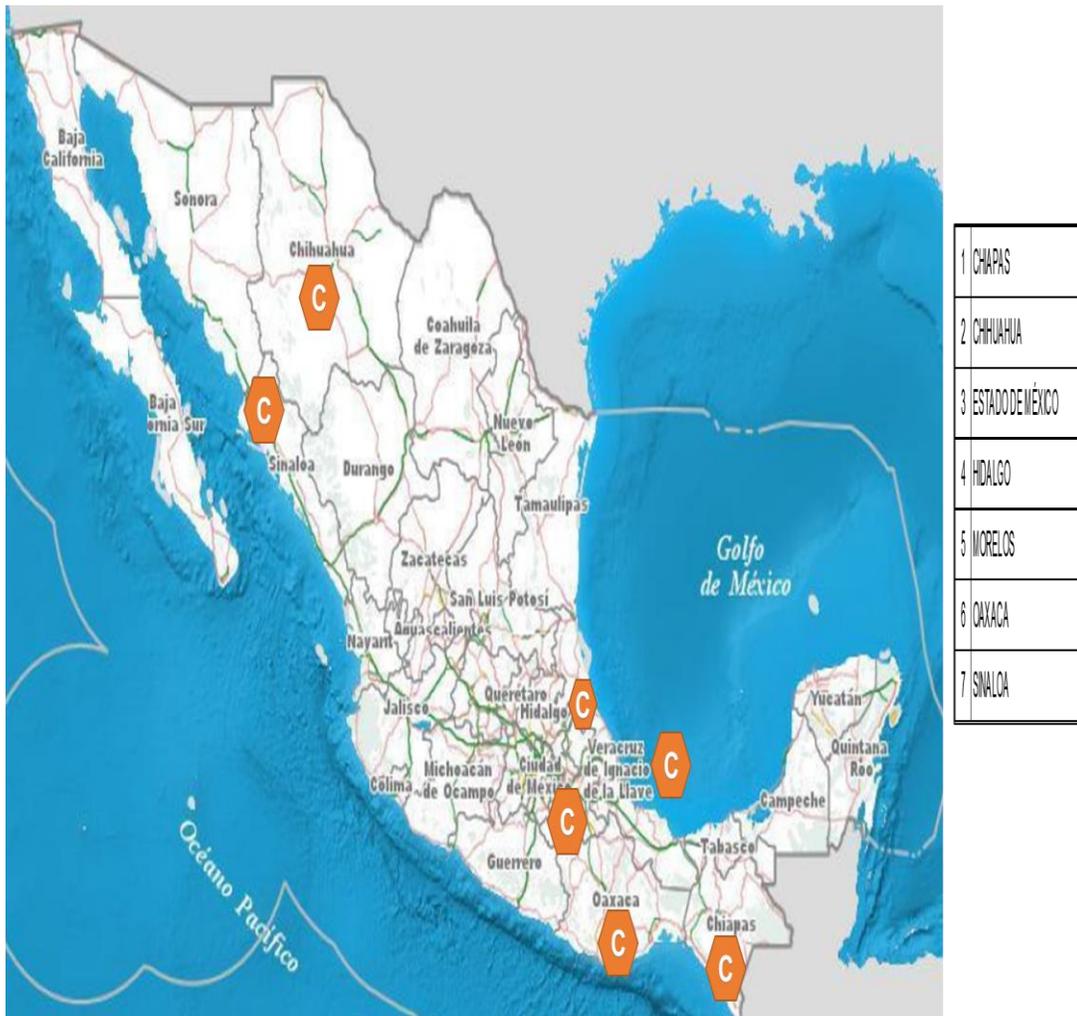


IMAGEN 14.- MAPA DE LA REPÚBLICA MEXICANA SEÑALIZADO POR ESTADO PARA UBICAR LA PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS DE LA MIEL QUE CONTIENEN CATALASA.

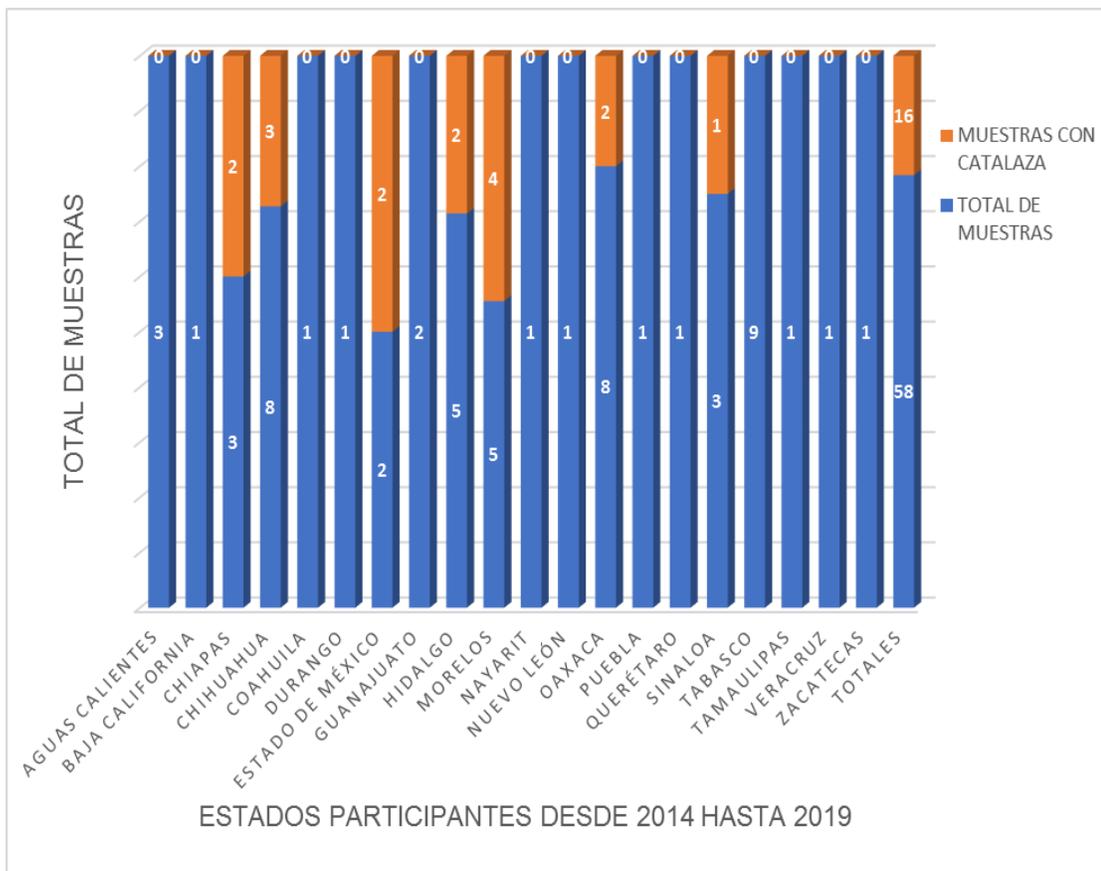
Fuente del mapa: (INEGI, s.f.)

El estudio presenta los resultados de 59 muestras (en total) de miel de abejas europeas *Apis Mellifera* procedentes de 21 estados de la República Mexicana; de las 59 muestras 16 de ellas dieron positivo en el contenido de enzima Catalasa, es decir, aproximadamente el 27% de las muestras analizadas.

Al 100% de las 59 muestras se le realizaron 6 pruebas básicas (354 pruebas) y a las 16 muestras que tienen Catalasa se le realizaron 6 pruebas ópticas adicionales (COPAM) 3 pruebas en el rango UV-Vis y 3 pruebas en el rango NIR (Espectro, Absorbancia y Trasmittancia) es decir 96 pruebas ópticas. El número total de pruebas ejecutadas son 450.

Resulta de gran importancia para los apicultores mexicanos de dichos estado y regiones el conocer que sus mieles podrían tener un importante incremento del valor económico en el mercado internacional, (la miel de Manuka procedente de Nueva Zelanda cotiza en el mercado internacional con hasta más de OCHO veces el valor por Kilogramo que otras mieles en el mismo mercado, 150 USD, 137.62 € aproximadamente igual a 2,959.728 MXN, esto obedece, según la Oficina de Propiedad Intelectual del Reino Unido a "la evidencia ha demostrado que esta miel tiene **cualidades antibacterianas específicas** que la convierten en un producto valioso para tratar heridas".) <https://www.bbc.com/mundo/noticias-42571334> consultado el 30/09/2019 cualidades coincidente con lo expuesto en la tabla 3.

A continuación, se presenta el gráfico que muestra la procedencia de las muestras de miel por estado, la cantidad total de muestras analizadas y las muestras que contienen enzima Catalasa.



GRÁFICA 90.- GRÁFICA POR ESTADOS DE LA REPÚBLICA MEXICANA EN LOS CUALES FUE POSIBLE OBTENER MUESTRAS DE MIEL, ANALIZARLAS Y DETECTAR CONTENIDO DE CATALASA.

Por los resultados observados en la gráfica podemos inferir que existen regiones de la República Mexicana con especies botánicas mayor probabilidad de poder producir miel que contenga Catalasa.

CONCLUSIONES

- Se pudo desarrollar un método que permite determinar la existencia de enzima Catalasa en la miel producida por abejas europeas *Apis Mellifera*, en la República Mexicana.
- El método resulta de bajo costo relativo con respecto a técnicas instrumentales, fiable por la repetitividad de los 450 experimentos realizados que comprueban la técnica y fácil de aplicar en cualquier lugar con una pipeta y un recipiente.
- El método permite, posteriormente en laboratorio, determinar la cantidad de Oxígeno sintetizado por la CATALASA y el tiempo que dura la reacción, ambos factores resultan de suma importancia, el primero nos dará un indicado de la cantidad de enzima presente en la miel y el segundo factor permite conocer el tiempo que la Catalasa esté actuando sobre el Peróxido de Hidrógeno agregado a la miel de abejas europeas (*Apis Mellifera*).
- Las características básicas de las muestras de miel tales como densidad específica, humedad, azúcares totales, sólidos, pH, fueron obtenidas.
- Los resultados de la Caracterización óptica de las muestras de miel mediante el espectro electromagnético en los rangos UV-Vis y NIR permitirá por comparación con futuras muestras asegurar que se trata de miel procedentes del mismo origen geográfico y climático que el de las actuales muestras (estudiadas) aplicando el método COPAM (Broca, 2014).
- La evaluación proyectada en los objetivos particulares (tres muestras) fue superada ampliamente (59 muestras en total) en cuanto a las tres regiones las regiones de procedencia corresponden a 21 estados de la

República Mexicana Los orígenes botánicos son de Mangle, Poli-floral y Aguacate.

- Resulta de gran interés económico para los apicultores conocer si la miel que producen sus colmenas contiene enzima Catalasa porque su valor en el mercado internacional podría incrementarse notablemente, considerando el precio de la miel de Manuka, 150 USD, 137.62 € aproximadamente igual a 2,959.728 MXN precio por Kilogramo, pero las presentaciones de 250 g (8.8 Ounce) tienen un costo (puesto en manos del consumidor mexicano) de hasta 197.8 USD, 180.74€, aproximadamente 3,885.66 MXN).

https://www.amazon.com/s?k=manuka+honey&mk_es_US=%C3%85M%C3%85%C5%BD%C3%95%C3%91&crd=PBCZ3MAEKMGP&sprefix=Manuka%2Caps%2C479&ref=nb_sb_ss_i_1_6www.amazon.com

consultado el 30/09/2019.

- Existen dos formas de realizar el trabajo para la detección de la enzima Catalasa la primera mediante la aplicación de Peróxido de Hidrógeno y la segunda mediante la observación de los espectros generados por el paso de la luz a través de la miel.
- El método para la determinación de calaza en la miel de abejas permite detectar la existencia de enzima independiente de si la muestra de miel se encuentra en estado líquido o la miel esta cristalizada.

TRABAJOS A FUTURO

Existen trabajos complementarios e interesantes a desarrollar en diferentes campos a fin de conocer con mayor precisión la procedencia de la enzima Catalasa en la miel de abeja en la siguiente tabla exponemos algunas actividades futuras.

TABLA 23.- TRABAJOS FUTUROS PROPUESTOS PARA DAR CONTINUIDAD A LA INVESTIGACIÓN DE ENZIMA CATALASA EN LA MIEL DE ABEJAS EUROPEAS *APIS MELLIFERA* U OTRAS ESPECIES DE ABEJAS.

TRABAJOS A FUTURO		
No.	TRABAJO	PROPÓSITO
1	Identificar si la Catalasa adicionada artificialmente reporta el mismo efecto	Evitar la adulteración intencional del producto de la <i>Apis mellifera</i>
2	Realizar estudios de verificación en otros tipos de miel elaborada por otras especies de abejas tales como las abejas <i>Meliponas</i> (abejas sin aguijón).	Validar de manera certera si el método para detección de Catalasa mediante la adición de Peróxido de Hidrógeno funciona para otros tipos de miel.
3	Estudio de la tensión superficial de la miel	Determinar si ésta influye en la velocidad de la reacción y el tamaño de las burbujas que resultan de diferente tamaño para ciertas muestras de miel.
4	Análisis de suelos	Conocerlos elementos presentes en el suelo que pudieran inducir

		en la producción de Catalasa por parte de las plantas.
5	Análisis del néctar producido por las plantas	Diferenciar cuándo la Catalasa proviene de la planta nectarífera y cuándo proviene del individuo (abeja)
6	Temporada de las cosechas de miel por región	Estacionalidad de las floraciones productoras de néctar con Catalasa
7	Raza de los individuos (abeja)	Determinar si alguna raza o sub-raza tiene la capacidad de aportar a la miel la enzima Catalasa.
8	Pruebas para determinar la actividad de la enzima Catalasa en miel de abejas a través del tiempo mediante pruebas de anaquel.	Establecer rangos de caducidad de las propiedades de síntesis de la enzima Catalasa miel con respecto sobre el Peróxido de Hidrógeno (H ₂ O ₂).
9	Pruebas para determinar la actividad de la enzima Catalasa en la miel de abejas por efecto de temperatura-tiempo	Determinar la temperatura máxima que la Catalasa es capaz de soportar antes de ser destruida en el seno de la miel.
10	Pruebas de segundas y terceras muestras con el mismo origen geográfico y climático	Certificar la rastreabilidad de la miel con presencia de Catalasa.

11	Registro del impacto ambiental (deforestación, mono-cultivos, uso de pesticidas no orgánicos, contaminación suelos, cuerpos de aire y en general del medio ambiente) sobre el contenido de Catalasa en la miel de abejas europeas <i>Apis Mellifera</i> y en general cualquier especie de abejas.	En función del estudio de los efectos ambientales, desarrollar proyectos para ejecutar acciones en colaboración con los apicultores y autoridades del ramo que auxilién para erradicar o minimizar el impacto negativo que pudieran generar en el contenido de Catalasa en la miel de abejas.
----	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

BIBLIOGRAFÍA:

- (SADER)*, (SAGARPA), (COTECOCA)**. (1998). *FLORA NECTARÍFERA Y POLINÍFERA DE LA PENINSULA DE TUCATÁN*. (SAGARPA, Ed.) SAGARPA.
- A., Z. (291 de Octubre de 2013). (T. ". University, Ed.) *Annal of Burns and Fire Disaters, XXVII(I)*.
- Álvarez-Suarez, J. M., Daimy Díaz, S. T., & Yadiley Estevez, S. R. (2010). Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cunab honeys and their correrlation with color , polyphenol content and other compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 2490. Recuperado el 2018
- Andrade, R. D., Torres, R., & Pérez, A. M. (2016). Effect of the Addition of Saccharose and Fructose Syrup on the Rheological Behavior of Honey Bees. *SciELO Analytic*, 27(1). Recuperado el 22 de 08 de 2019
- Ayala Aceves, M., & Ramírez Ramírez, J. (2012). Enzimas: ¿qué son y cómo funcionan? <http://www.revista.unam.mx/vol.15/num12/art91/>. Recuperado el 25 de Enero de 2019
- Bogdanov., S. (2006). <http://bee-hexagon.net>. Recuperado el 05 de Marzo de 2019, de <http://bee-hexagon.net>.
- Broca, Q. P. (ENERO de 2014). DETERMIANCIÓN DE ADULTERACIÓN EN MIEL DE ABEJAS EUROPEAS MEDIANTE EL EMPLEO DE BANDAS DEL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO. *DETERMIANCIÓN DE ADULTERACIÓN EN MIEL DE ABEJAS EUROPEAS MEDIANTE EL EMPLEO DE BANDAS DEL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO*. Cuernavaca, Morelos, México:

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MORELOS.

- CE Anyanечи, B. S. (14 de Septiembre de 2015). Honey and wound dehiscence: A study of surgical wounds in the mandibular bed. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 18(2), 251-255. Recuperado el 27 de Noviembre de 2017
- Céspedes Miranda, E. M., Hernández Lantigua , I., & LLópez Janer, N. (Julio- Diciembre de 1996). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: II. Ctalasa. (SciELO, Ed.) *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 15(2), 1. Recuperado el 12 de 11 de 2018
- Colthup, N., Daly, L. H., & Wiberley, S. E. (2012). *INTRODUCTION TO INFRARED AND RAMAN SPECTROSCOPY* (2nd edition ed., Vol. Único). Academic Press Inc. Recuperado el 29 de Mayo de 2018
- Comisión del Codex Alimentarius. (11 de Febrero de 2000). *PROYECTO DE NORMA REVISADO DEL CODEX PARA LA MIEL*. (O. M. SALUD, Ed.) Roma, Italia: ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDOS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN.
- Comisión el Codex Alimentarius. (2003). <http://ftp.org/codex/Meeting/ccs/eas/ccs7/500.0.3fao.org>.
Obtenido de <http://ftp.org/codex/Meeting/ccs/eas/ccs7/500.0.3fao.org>.
- Crane, E. (1990). Bee and Beekeeping; science, practice and world resources. *Oxford University Press*.

- Dee A. Carter, S. E. (20 de Abril de 2016). Therapeutic Manuka Honey: No Longer So Alternative. (F. i. Microbiology, Ed.)
- Derraik G. B., J. (2008). New Zealand manuka (*leptospermum scoparium*); Myrtaceae): a brief account of its natural history and human perceptions. *New Zealand Garden Journal*, 11 (2), 4.
- Díaz, A. (2003). La Estructura de las Catalasas. (UNAM, Ed.) *UNAM Periodica Library Catalog*, 22(2), 61-74.
- Drain, J., & Fleming, M. O. (Abril de 2015). Palliative Management of Malodorous Squamous Cell Carcinoma of the Oral Cavity With Manuka Honey. (O. N. Wound, Ed.) 190-192. Recuperado el 19 de Marzo de 2019
- E., C. (s.f.). Bee and Beekeeping science, practice an wordl resources . *Oxford Uneversity Press* .
- Fahmida Alam, M. A. (15 de Octubre de 2014). Honey: A Potential Therapeutic Agent for Managing Diabetic Wounds. (P. Visen, Ed.) *Hindawi Publishing Corporation*, 2014. doi:10.1155/2014/1691.30
- Gómez Díaz, , D., Navaza, J., M., & Quintáns-Riveiro, L. (4 de 12 de 2004). VISCOSIMETRIC STUDY OF MULTIFLORAL HONEYS WITH SPECIFIC GUARANTEE <<MIEL DE GALICIA>>. (redalyc.org, Ed.) *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 4(4), 234-239. Recuperado el 01 de 2019
- González Yoval, P., Jimenéz Arnda, M., García Morales, R., y Rodríguez segura, E., & Leuman, G. (2015). *CATALAZA EN IGADO DE POLLO*. Escuela Nacional Preparatoria Número 2 (UNAM).

Haryanto, R. M. (April de 2012). *Effectiveness of Indonesian Honey on the Acceleration of Cutaneous Wound Healing : An experimental Study in Mice*. Recuperado el 2019, de www.woundsresearch.com.

<https://www.manukaguard.com/>. (s.f.).

<https://www.manukaguard.com/>. (W. a. Ltd., Editor, & W. a. Ltd., Productor) Recuperado el 26 de Febrero de 2019, de <https://www.manukaguard.com/>.

INEGI. (s.f.). <https://inegi.org.mx/default.html>. (INEGI, Productor) Recuperado el 27 de 10 de 2019

Keith Tipton, S. B. (1 de January de 2000). ExplorEnz: the primary source of the IUBMB. (O. Academic, Ed.) *Bioinformatic*, 16(1), 34-40. Recuperado el 12 de Marzo de 2019

Keith Tipton, S. B. (01 de January de 2000). History of the enzyme nomenclature system. (O. U. press, Ed.) *Bioinformatics*, 16, 34-40. doi:10.1093

LLOYD R. SNYDER, J. J. (2013). *PRACTICAL HPLC METHOD DEVELOPMENT* (Segunda ed., Vol. Único). (I. JOHN WILEY & SONS, Ed.) A Wiley-Interscience Publications. Recuperado el 07 de 03 de 2018

LOEZA, Q. M. (Diciembre de 2003). MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE MUESTREO Y TOMA DE MUESTRAS DE MIEL DE ABEJAS. *MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE MUESTREO Y TOMA DE MUESTRAS DE MIEL DE ABEJAS*, Único, 4-8. (G. D. Secretaría de Agricultura, Ed.) Cuernavaca, Morelos, México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo

Rural, Pesca y Alimentación (Sagarpa),. Recuperado el Enero de 2013

N Al Somal, K. E. (Enero de 1994). Susceptibility of Helicobacter pylori to the antibacterial activity of manuka honey. (J. o. Medicine, Ed.) *Malasyan of Medicine Sciences*, 87.

Najib Sufya, N. M. (2014). Evaluation of bactericidal activity of Hannon honey on slowly growing bacteria in the chemostat. *Drug Healthc Patients Saft.* , 139-144.

Neil E. Jacobsen, P. (2007). *NMR Spectroscopy Explained Simplified Theory, Applications and Examples for Organic Chemistry and Stuctural Biology* (Vol. UNICO). (J. W. Sons, Ed.)

Omur GUMALDI, S. E. (08 de Octubre de 2013). "Honey" can Prevent Epidural Fibrosis Development After Laminectomy : An Experimental Study. *Turkish Neurosurg*, 24(6), 849-854. doi:10.5137/1019-5149.JTN.8783-13-0

Othman, S. A. (30 de Marzo de 2013). Review of the Medicinal Effects of Tualag Honey and a Comparison with Manuka Honey. (T. M. MedicalScience, Ed.) *The Malaysian Journal of MedicalScience*. Recuperado el 02 de Marzo de 2019

patrick R. Schmidlin, H. E. (22 de Octubre de 2013). Antibacterial potential of Manuka Honey against three oral bacteria in vitro. (S. Z.-G. d'Odonto-Stomatologie, Ed.) *SWISS DENTAL JOURNAL*, 124, 922-927.

Ramírez Ramírez, J., & Ayala Aceves, M. (1 de Diciembre de 2014). Enzimas: aceleradores de reacciones químicas en las células y en la industria. (R. D. Universitaria, Ed.) *Revista Digital Universitaria*, 15(12).

- Real Academia Nacional de Medicina. (2011). *Diccionario de Términos Médicos* (Vol. Único). Madrid, Madrid, España: Editorial Médica Panamericana. Recuperado el Febrero de 2019
- Real Acedemia Nacional de Medicina. (2012). Diccionario de Términos Médicos. *Diccionario de Términos Médicos, Único*. (E. M. Panamericana, Ed.) Madrid, Madrid, España: Editorial Médica Panamericana. Recuperado el Febrero de 2019
- Rodríguez Ramírez , C., & Humbert González, J. (Abril de 2011). Alternative methods for treating patients with infected wounds. (Scielo, Ed.) *MEDISAN*, 15(4).
- Rose, A., & Rose, E. (1959). *DICCIONARIO DE QUÍMICA Y DE PRODUCTOS QUÍMICOS* (Vol. Unico). (D. J. Gargallo, Trad.) Barcelona, España: Ediciones Omega, S. A. Recuperado el 28 de Enero de 2019
- SAGARPA-SENASICA. (2010). *Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en la Producción de Miel* (SEGUNDA ed.). Recuperado el 21 de Febrero de 2014
- Santos Castellanos, M. &. (2010). *Análisis de Crecimiento y Relación Fuente-Demanda de Cuatro Variedades de Papa (Solanum tuberosum) en el Municipio de Zapaquirá (Cundinamarca, Colombia)*. Red de revistas Científicas de América Latina y El Caribe, España y Portugal.
- SEPAFIN, DGN, , S. (1981). NMX-F-036-981. MIEL DE ABEJA. ESPECIFICACIONES. NORMA MEXICANA. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS. NMX-F- 036-.

Simbaqueba C., R., Serna, F., & Posada-Flores, F. J. (Enero-Junio de 2014). CURADURÍA, MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN DE ÁFIDOS (HEMIPTERA: APHIDIDAE) DEL MUSEO ENTOMOLÓGICO UNAB. PRIMERA APROXIMACIÓN. (M. d. Caldas, Ed.) *Boletín Científico, Centro de Museos, Museo de Historia Natural*, 18(1), 222-246. Recuperado el 21 de 02 de 2019

Watson and Son Ltd. (s.f.). <https://www.manukaguard.com/>. Recuperado el 26 de Febrero de 2019

Weirich G., C. A. (2002). *Antioxidant enzymes in the honey bee, Apis mellifera*. *Apidologie, Springer Verlag* (Vol. 33). (Apidologie, Ed.)

White, J. (1979). Methods for determining Carbohydrates, Hidroxymethylfurfural and proline in honey. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*(62), 515-526.

ANEXOS:

Anexo A: Equipo y material para determinar la densidad específica, humedad, azúcares totales, sólidos, pH:

Agua destilada

Algodón absorbente

Báscula OHAUS Traveler Máx. = 300g; Min. = 0.01g

Muestras de Miel de abejas europeas (*Apis Mellifera*)

Paño de microfibra

pH-metro, marca Sper Scientific, modelo 850050.

Pipeta de plástico de 3-5 ml.

Probeta de 10 ml.

Reflectómetro marca Merck, modelo RQflex® plus10. (HMF)

Refractómetro digital marca MISCO, modelo #PA203

Refractómetro óptico hand held, marca APE advanced Optic Inc.

Refrigerador (para conservación de tiras reactivas 4°C)

Termómetro digital TAYLOR®, 9841, T°= -50/260°C (-58/500°F).

Vaso de acero inoxidable de 150 ml.

Vasos de precipitado de vidrio con capacidad de 150 ml.

Anexo B: Equipo y material empleado para la detección y cuantificación de Catalasa:

Agitador de acero inoxidable gado quirúrgico.

Agua caliente, preferentemente baja en sal o destilada.

Alcohol de 96°GL para barrido de agua en celdas.

Atomizador de 250 ml.

Báscula OHAUS Traveler Máx. = 300g; Min. = 0.01g

Botes de plástico gado alimenticio. 1000ml. aprox. Cámara fotográfica.

Cofia

Conectores de plástico

Cronómetro

Cubre-boca.

Gradilla de madera para tubos de ensayo.

Hisopos de algodón.

Lentes de seguridad.

Mangueras

Matraces Kitasato

Nevera para transporte de muestras.

Paño de microfibra marca 3M.

Papel "parafilm".

Papel toalla.

Placa de madera

Termómetro digital Taylor 9841 (+-0.1°C)

Vaso de acero inoxidable de 150 ml.

Vasos de precipitado de vidrio 150 ml.

Tapones de hule

Tubos de "U" de vidrio boro-silicato

Velcro.

Anexo C: Equipo y material para caracterización óptica de miel:

Agitador de acero inoxidable gado quirúrgico.

Agitador ultrasónico de 40Hz.

Agua caliente (70°C) preferentemente baja en sal o destilada.

Aire comprimido.

Alcohol de 96°GL para barrido de agua en celdas.

Atomizador de 250 ml.

Báscula granataria de tres brazos $\pm 0.05g$.

Base para porta-cubetas (celdas), THORLabs.

Cámara fotográfica Canon PowerShot SD900.

Celdas de Cuarzo de dos ventanas y 3.5ml capacidad.

Cofia y Cubre-boca.

Conductores de fibra óptica (Ultravioleta hasta infrarrojo medio).

Cotonetes (hisopos de algodón).

Espectrómetro Infrarrojo cercano (NIR), Ocean Optics, NIR-512.

Espectrómetro Ultravioleta-Visible, Ocean Optics, HR4000 U-NIR.

Estufa eléctrica (calentadora) de 40 a 150°C.

Fuente emisora de luz, MikroPack, modelo DH-2000-BAL.

Guantes de hule con malla de algodón interior.

Jeringa de plástico de 60ml.

Lentes de seguridad.

Nevera para transporte de muestras.

Paño de microfibra marca 3M.

Papel "parafilm".

Papel toalla.

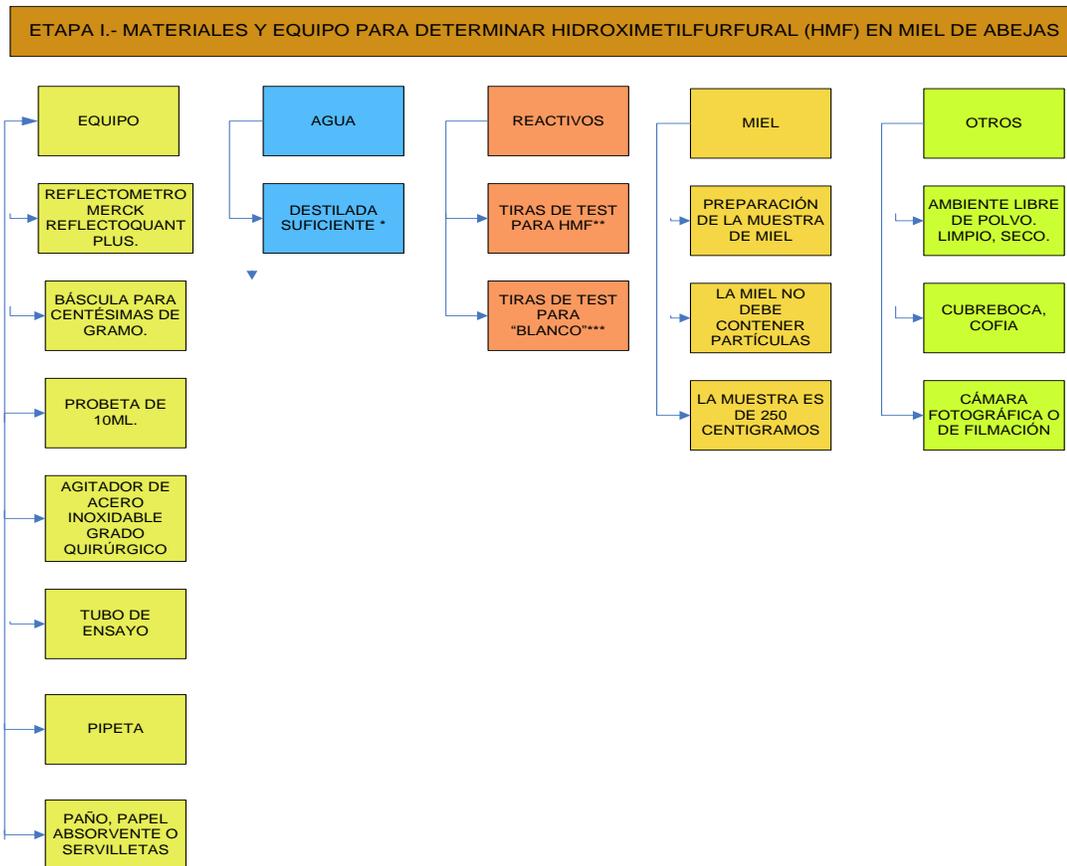
Software para adquisición de datos SpectraSuite®

Software para graficación, OriginPro 8®

Termómetro digital TAYLOR®, 9841, T°= -50/260°C (-58/500°F).

Vasos de precipitado de 150 ml.

Anexo D: Material, Equipo y modo de empleo para medición de Hidrometilfurfural en Miel de Abejas europeas Apis Mellifera:

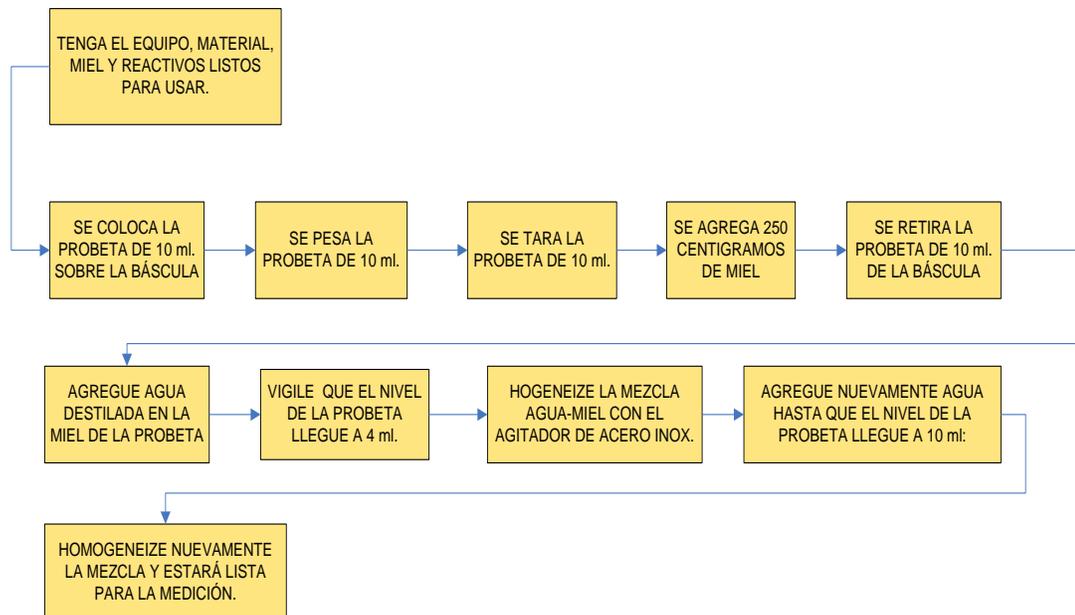


* El agua destilada se usará para diluir la miel así como para limpiar el material y equipo en caso de ser necesario, con 250 ml. será suficiente. (dependiendo del número de muestras que serán analizadas).

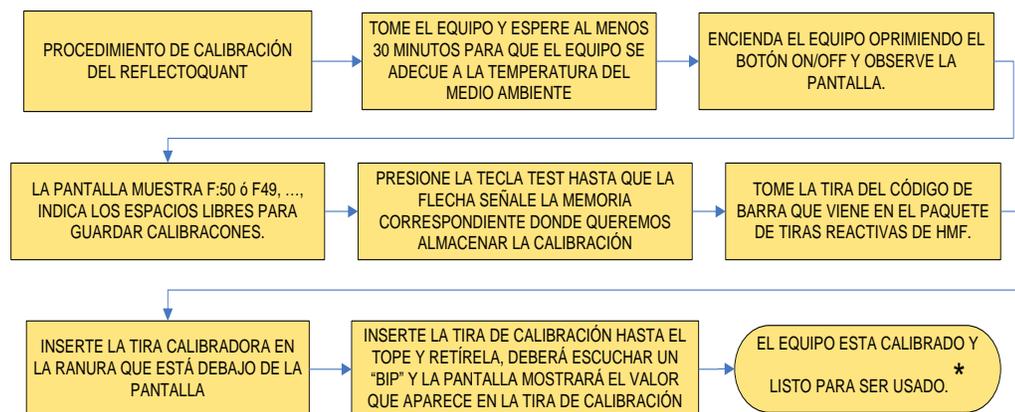
**HMF (Hidroximetilfurfural).

*** "BLANCO" Tira con (¿reactivo?) para tomar la lectura de HMF en miel previa a la utilización de la tira que **SI** contiene el reactivo para tomar la lectura de HMF en la miel.

ETAPA II.- PREPARACIÓN DE LA MIEL PARA DETERMINAR HIDROXIMETILFURFURAL (HMF)

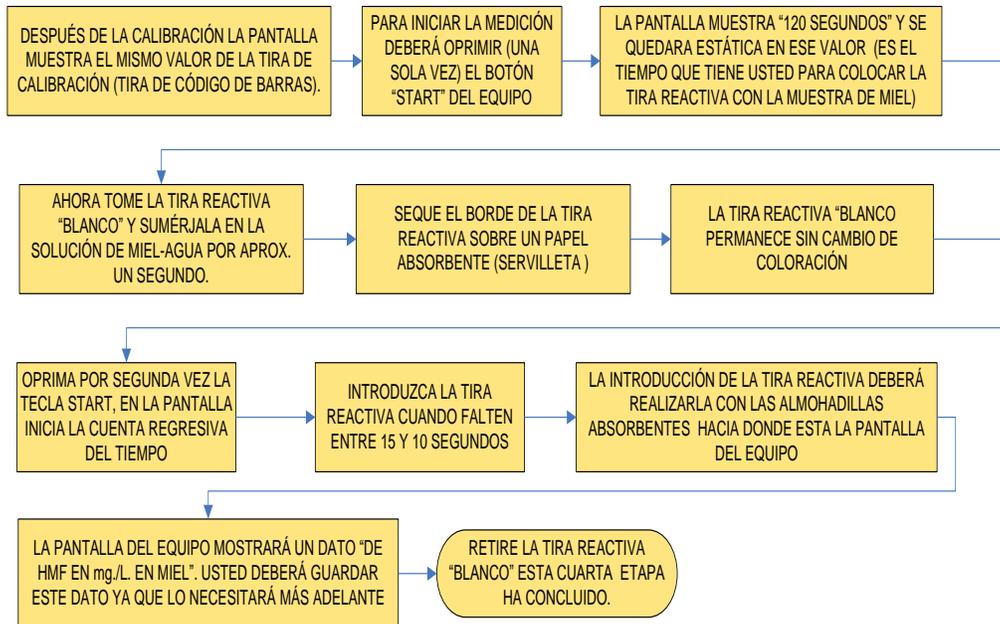


ETAPA III.- CALIBRACIÓN DEL EQUIPO REFLECTOQUANT PARA DETERMINAR HMF EN MIEL

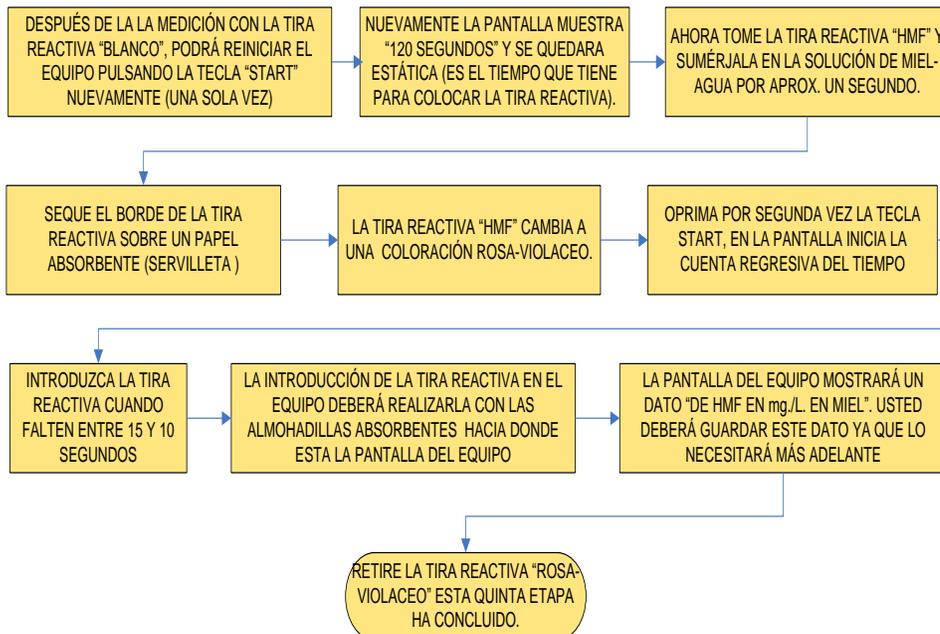


* PARA PROCESOS DE RECALIBRACIÓN CONSULTAR EL MANUAL DE OPERACIÓN

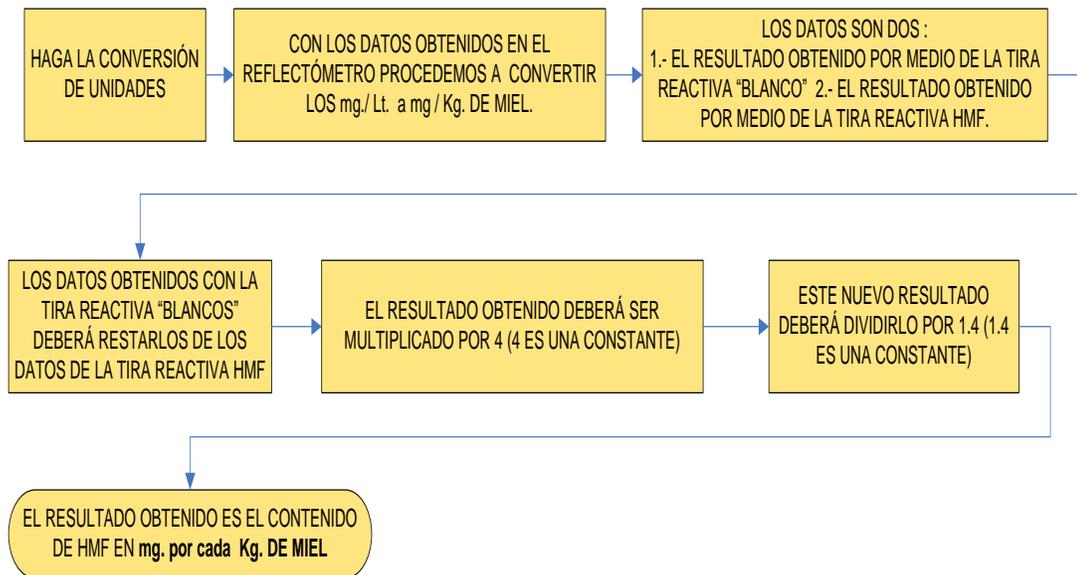
ETAPA IV.- USO DE LA TIRA REACTIVA "BLANCO" PARA DETERMINAR HMF EN MIEL.



ETAPA V.- USO DE LA TIRA REACTIVA "HMF" PARA DETERMINAR HMF EN MIEL.



ETAPA VI.- CONVERSIÓN DE UNIDADES



En la actualidad El **Codex Alimentarius 2003**, ha fijado el parámetro máximo de HMF en miel de abejas en 80mg./Kg. de miel, existe una propuesta para cambiar éste parámetro a **6mg de HMF por cada gramo de miel**. La **NMX-F-036-981**, lo establece en 150 mg /Kg. de miel.

EJEMPLO NUMÉRICO DEL CÁLCULO DE HMF EN MIEL DE ABEJAS (APIS MELLIFERA)

CON LOS DATOS OBTENIDOS EN EL REFLECTÓMETRO PROCEDEMOS A CONVERTIR LOS mg./ Lt. a mg / Kg. DE MIEL.

DATO 1.- OBTENIDO DE LA TIRA "BLANCO" = 14.3 mg/Kg DE HMF
DATO 2.- OBTENIDO DE LA TIRA ROSA-VIOLACEA = 42.9 mg/Kg DE HMF
HACEMOS: $(42.9 \text{ mg/Kg} - 14.3 \text{ mg/Kg}) = 28.6 \text{ mg/Kg DE HMF}$
A CONTINUACIÓN HACEMOS: $[(28.6 - 4) \times (4)] / (1.4) = 70.3 \text{ mg/Kg DE HMF}$ (está dentro de la norma)
NOTA: 4 y 1.4 son constantes de la ecuación.

Anexo E: Datos De La Fuente: Lámpara Balanceada De Deuterio-Tungsteno, De 210-1700 Nm, 1000 Hrs., Modelo Dh-2000-Bal, Marca Micropack (Ocean Optics).

Dimensiones: 150 mm x 135 mm x 319 mm
Peso: 3.8 kg
Consumo de energía: 25 W (deuterio); 20 W (tungsteno halógeno)
Longitud de onda: 215-400 nm (bulbo de deuterio)
360-2000 nm (bulbo de tungsteno halógeno)
Humedad: 5-95% sin condensación a 40° C
Voltaje del bulbo de tungsteno: Ajustable de 4.5 a 11.5 volts
Corriente de la lámpara: Operando 85 V / 0.3 A
Tiempo de vida de la lámpara: 1000 horas
Voltaje de la lámpara: Ignición 350 V/20°
Temperatura de operación: 5° C – 35° C
Requerimientos de energía: 85-264 V, 50/60 Hz
Potencia total: 100 W
Consumo de energía total: 190 W máximo
Tiempo de calentamiento: 40 minutos (deuterio); 20 minutos (tungsteno halógeno)

web.compranet.gob.mx:8000/HSM/UNICOM/11085/.../ba09003002.doc

Anexo F: La Radiación Electromagnética

La radiación electromagnética es una combinación de campos eléctricos y magnéticos oscilantes, que se propagan a través del espacio transportando energía de un lugar a otro. A diferencia de otros tipos de onda, como el sonido, que necesitan un medio material para propagarse, la radiación electromagnética se puede propagar en el vacío.

Naturaleza de la radiación

Las radiaciones electromagnéticas se caracterizan por la existencia en cada punto del espacio en que se transmiten de un campo eléctrico y un campo magnético relacionados entre sí. Las ondas electromagnéticas presentan una variación periódica que se propaga en el vacío a una velocidad de 300.000 km/s.

La intensidad luminosa “I” puede definirse como el flujo luminoso en una determinada dirección, radiado por unidad de ángulo sólido, su unidad es **“la candela” = 1 lumen / estereorradián.**

$$I = F/\Omega$$

Donde: I = Intensidad luminosa, medida en candelas (cd).

F = Flujo luminoso en lúmenes (lm).

Ω = Elemento diferencial del ángulo sólido, en estereorradianes (sr).

La Absorbancia Óptica: Cuando un haz de luz incide sobre un cuerpo traslúcido, una parte de esta luz es absorbida por el cuerpo, y el haz de luz restante atraviesa dicho cuerpo.

A mayor cantidad de luz absorbida, mayor será la **absorbancia** del cuerpo, y menor cantidad de luz será transmitida por dicho cuerpo. Como se ve, la absorbancia y la transmitancia son dos aspectos del mismo fenómeno. La absorbancia, a una determinada longitud de onda λ , se define como:

$$A_{\lambda} = -\log_{10} (I/I_0).$$

λ = una longitud de onda específica.

“I” Cantidad de luz transmitida por la muestra

“I₀” es la cantidad total de luz incidente.

La Transmitancia Óptica se refiere a la cantidad de luz que atraviesa un cuerpo, en una determinada longitud de onda. Cuando un haz de luz incide sobre un cuerpo traslúcido, una parte de esa luz es absorbida por el mismo, y otra fracción de ese haz de luz atravesará el cuerpo, según su transmitancia. El valor de la transmitancia óptica de un objeto se puede determinar según la siguiente expresión:

“I” Cantidad de luz transmitida por la muestra

“I₀” es la cantidad total de luz incidente.

Muchas veces encontraremos la transmitancia expresada en porcentaje, según la fórmula:

$$T\% = (I/I_0) \times 100\%$$

TOMADO DE: [Transmitancia y absorbancia | La Guía de Química
http://quimica.laguia2000.com/conceptos-basicos/transmitancia-y-absorbancia#ixzz2EbtIMztp](http://quimica.laguia2000.com/conceptos-basicos/transmitancia-y-absorbancia#ixzz2EbtIMztp).

Anexo G: Hong Kong: Descubren irregularidades en algunas marcas de miel.

Lunes, 22 de julio del 2013

Los fiscalizadores del Consejo de consumidores señalan que algunas marcas de miel contienen azúcar,

En varias marcas de miel, vendidas en Hong-Kong, se encontraron ingredientes que no son propios de la miel y también indicaciones erróneas en el etiquetado respecto al origen del producto.

Se tomaron muestras de 55 marcas de miel, 14 de ellas contenían azúcar o sucedáneos y varias certificaban ser “natural” o “pura”, en contravención del reglamento del etiquetado. El Consejo de Consumidores remitió sus conclusiones al Ministerio de Aduanas e Impuestos Especiales. Un portavoz de este último, indicó que se tomarán medidas “si la evidencia es suficiente,” para demostrar si alguna marca incumplió la normativa comercial, basándose en los estándares de la miel según el Codex.

Las autoridades no pudieron entregar las cifras concretas sobre la cantidad de azúcar añadida en cada producto, porque el método de análisis no la puede cuantificar con precisión, pero se consideró que cuatro de las muestras en cuestión contenían cantidades significativas de azúcar provenientes de algún jarabe de maíz, caña de azúcar, arroz u otros sucedáneos.

Los fiscalizadores destacaron varias marcas, incluyendo productos de Nueva Zelanda, una de las mieles más caras. No están claras las causas de estas adulteraciones, si se deben a la alimentación de las abejas o si se están añadiendo aditivos durante el proceso de elaboración.

Además, siete marcas de miel tenían un origen mal etiquetado: una de ellas es un producto coreano al cual también se le detectaron trazas de azúcar.

Los fabricantes de la miel neozelandesa cuestionan el método de análisis que se usó en el laboratorio, señalando que es antiguo y que castiga la alta calidad de la miel de manuka, en comparación con mieles de menor calidad que generalmente aprueban este método.

Fuente (original): [South China Morning Post](#)

Tomado de: <http://www.agimundo.cl/p=22734>.

GLOSARIO

GLOSARIO DE TÉRMINOS:

Abeja.- *abeja.* (Del lat. *apicŭla*). *f.* Insecto himenóptero, de unos quince milímetros de largo, de color pardo neguzco y con vello rojizo. Vive en colonias, cada una de las cuales consta de una sola hembra fecunda, muchos machos y numerosísimas hembras estériles; habita en los huecos de los árboles o de las peñas, o en las colmenas que el hombre le prepara, y produce la cera, la mie, el polen, la jalea real y el propóleo.

Acidez.- *acidez.* *f.* Cualidad de ácido; Sabor agaz de boca producido por exceso de ácido en el estómago, *f. Quím.* Exceso de iones de hidrógeno en una disolución acuosa, en relación con los que existen en el agua pura. *f. Quím.* Cantidad de ácido libre en los aceites, vinos, resinas, *etc., el agua tiene una acidez neutra, tiene un pH=7. Las sustancias ácidas tienen un pH<7.*

Alcalinidad. *f. Quím.* Cualidad de alcalino,(opuesta a la acidez). El agua con un pH=7 se considera la sustancia neutra, las sustancias alcalinas tienen un pH>7.

Alquilo: (nombre derivado de alcano con la terminación de radical –ilo, es un sustituyente formado por la separación de un átomo de hidrógeno de un hidrocarburo saturado o alcano, para que así el alcano pueda enlazarse a otro átomo o grupo de átomos.

Apicultura (Del lat. *apis* 'abeja' y *-cultura*). *f.* Arte de criar abejas para aprovechar sus productos.

Colmena.- *colmena.* (Quizá del celta **kolmēnā*, der. de **kōlmos*, paja; cf. bretón *kôlôen-wénan*, de *kôlô*, paja, y *wénan*, abejas) *f.* Habitación natural

de las abejas; **f.** Enjambre que vive en la colmena; **f.** Recipiente construido para habitáculo de las abejas.

Catalasa: La catalasa es una enzima antioxidante presente en la mayoría de los organismos aerobios. Cataliza la dismutación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno. La mayoría de estas enzimas son homotetrámeros con un grupo hemo en cada subunidad. Se ha determinado la estructura cristalográfica de nueve catalasas. Algunas catalasas tienen subunidades pequeñas (masa molecular ≈ 60 kDa) y otras grandes (masa molecular > 80 kDa). Entre estos dos tipos de catalasas existen diferencias estructurales importantes. Las catalasas pequeñas son menos resistentes a la desnaturalización, unen NADPH, tienen hemo *b* y se inhiben e inactivan por sustrato. En cambio, las catalasas grandes tienen un dominio extra en el C-terminal que es semejante a la flavodoxina, son muy resistentes a la desnaturalización, tienen hemo *d*, presentan enlaces covalentes inusuales cercanos al sitio activo y son resistentes a concentraciones molares de H_2O_2 .

Eluyente: Disolvente utilizado en técnicas de cromatografía para extraer un componente que se quiere separar de otra fase.

Humedad: La Humedad en la miel se mide por refractometría. Para el apicultor es uno de los principales indicadores del grado de maduración de la miel, junto con el porcentaje de celdillas operculadas en el panal y determinar si es el momento oportuno de la recolección o cosecha, de tal suerte que el almacenamiento fuera de la colmena permita conservar a ésta en buenas condiciones por largos periodos y así comercializarla con seguridad. Aunque la humedad depende de factores ajenos a las propias abejas, como son el clima, la época del año, la flora y por lo tanto la zona geográfica de donde proviene. El alto contenido de humedad lleva a

cristalización por fase, dando un aspecto propio de adulteración (la miel con alto contenido de humedad porque puede fermentar con facilidad), la humedad máxima permitida es del 21% para mieles provenientes de climas tropicales húmedos, la experiencia nos ha enseñado que mieles perfectamente maduras pueden contener hasta 24% de humedad, el opérculo y el interior de la colmena evita su fermentación, entre otras cosas por el Propoleo que las abejas colocan en el interior de la colmena como barrera para hongos, levaduras, bacterias, hongos y otros enemigos.

Miel f. Ind. Alim. Sustancia azucarada que resulta de la transformación del néctar de las flores en el tubo digestivo de las abejas. El néctar absorbido por las abejas es transformado por las secreciones digestiva de las mismas en una mezcla de azúcar invertido (dextrosa y levulosa) sacarosa y de sales minerales.

Panal m. Conjunto constituido por las numerosas celdillas de cera, en forma de prisma hexagonal construidas por las abejas para almacenar sus reservas de miel y en las cuales se crían también sus larvas hasta alcanzar el estado adulto.

pH: Es el potencial hidrógeno y mide el grado de acidez (menor a 7) o de alcalinidad (mayor de 7)

Potenciómetro m. *Electr. Instrumento para medir la diferencia de potencial,* el Potenciómetro y pH-metro es un sensor utilizado en el método electroquímico para medir el [pH](#) de una [disolución](#).

Refractómetro m. Los refractómetros miden el índice de refracción de una muestra líquida. Existen tres variables que influyen en el índice de refracción de una solución - composición química, concentración y temperatura. Si se pueden fijar dos de las tres variables, entonces se puede determinar la

tercera por medio del uso de un refractómetro. Existen algunas aplicaciones que implican el uso de refractómetros análogos para verificar la composición química y, por ende, identificar soluciones. La mayoría de estas aplicaciones se encuentran en las plantas de producción en donde un operador sabe lo que una solución dada debe medir, y se aprovechan refractómetros para verificar si las etiquetas son correctas y que no existan substituciones.

Silica tratada: Una de las fases estacionarias más comunes de este tipo de cromatografía es la silica tratada con **RMe₂SiCl**, donde la R es una cadena alquil tal como C₁₈H₃₇ o C₈H₁₇, (alkyl (benzyl) dimethylammonium chloride). El tiempo de retención es mayor para las moléculas de naturaleza apolar, mientras que las moléculas de carácter polar eluyen más rápidamente.



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS
Jefatura de Posgrado en Ingeniería y Ciencias Aplicadas

"1919-2019: en memoria del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Morelos, a 14 de octubre de 2019.

DRA. ELSA CARMINA MENCHACA CAMPOS
DIRECTORA INTERINA DEL CIICAP
P R E S E N T E

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada **DETERMINACIÓN DE LA EXISTENCIA DE ENZIMA CATALASA EN MIELES MEXICANAS** que presenta el alumno **PABLO BROCA QUEVEDO**, para obtener el título de **DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS** con opción terminal en **TECNOLOGÍA QUÍMICA**.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN	FIRMA
DR. J JESÚS ESCOBEDO ALATORRE	Aprobatorio	
DRA. LAURA LILIA CASTRO GÓMEZ	Aprobatorio	
DR. ANTONIO RODRÍGUEZ MARTÍNEZ	Aprobatorio	
DRA. LAURA PATRICIA ÁLVAREZ BERBER (CIQ - UAEM)	APROBATORIO	
DR. OSVALDO SÁNCHEZ HERNÁNDEZ (UAM Xochimilco)	Aprobatorio	
DR. ROSENBERG JAVIER ROMERO DOMÍNGUEZ	Aprobatorio	
DR. MIGUEL ÁNGEL BASURTO PENSADO	Aprobatorio	

PLAZO PARA LA REVISIÓN 20 DÍAS HÁBILES (A PARTIR DE LA FECHA DE RECEPCIÓN DEL DOCUMENTO)

NOTA. POR CUESTION DE REGLAMENTACIÓN LE SOLICITAMOS NO EXCEDER EL PLAZO SEÑALADO, DE LO CONTRARIO LE AGRADECEMOS SU ATENCIÓN Y NUESTRA INVITACIÓN SERÁ CANCELADA.