

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANO IN VITRO FRENTE A *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 EN MUESTRAS DE MIEL DE ABEJA (*Apis mellifera*) MULTIFLORAL DE HUARÁN (CALCA) Y LA MIEL DE EUCALIPTO DE CHACÁN (ANTA), CUSCO 2023

PRESENTADO POR:

Br. ISaura Achahui Chuctaya

Br. Alexander Quispe Huaman

PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

ASESORA:

Mg. AnaHi Karina Cardona Rivero

CO-ASESOR (A):

Mg. Zany SigrId Frisancho Triveño

CUSCO - PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: EVALUACION DE LOS PARAMETROS FISICOQUÍMICOS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANO IN VITRO FRENTE A Streptococcus Pneumoniae ATCC 49619 EN MUESTRAS DE MIEL DE ABEJA (Apis mellifera) MULTIFLORAL DE HUARÁN (CALCA) Y LA MIEL DE EUCALIPTO DE CHACÁN (ANTA), CUSCO 2023

presentado por: QUISPE HUAMAN ALEXANDER con DNI Nro.: 43806536..... presentado por: ACHAHUI CHUCTAYA ISAUVA con DNI Nro.: 47665106..... para optar el título profesional/grado académico de QUÍMICO FARMACÉUTICO.....

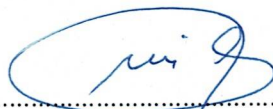
Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 01 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 10.....%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

| Porcentaje | Evaluación y Acciones | Marque con una (X) |
|----------------|---|--------------------|
| Del 1 al 10% | No se considera plagio. | X |
| Del 11 al 30 % | Devolver al usuario para las correcciones. | |
| Mayor a 31% | El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley. | |

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 13 de Diciembre..... de 2024.....



Firma

Post firma ANAHI KARINA CARDONA RIVERO

Nro. de DNI 23998511

ORCID del Asesor 0000-0001-6397-9162

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid: 27259:415759470

2 EVALUACION DE PARAMETROS FISICOQUIMICOS.pdf

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:415759470

Fecha de entrega

13 dic 2024, 7:58 a.m. GMT-5

Fecha de descarga

13 dic 2024, 8:57 a.m. GMT-5

Nombre de archivo

2 EVALUACION DE PARAMETROS FISICOQUIMICOS.pdf

Tamaño de archivo

25.8 MB

191 Páginas

32,920 Palabras

187,033 Caracteres

10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...




Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Exclusiones


- ▶ N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 9%  Fuentes de Internet
- 4%  Publicaciones
- 6%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
59 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

Dedico este logro a Dios Padre, cuya gracia me ha permitido culminar esta etapa de formación profesional, fortaleciéndome con sabiduría, valentía y perseverancia. También a mis amados padres, Félix y Paulina (+), y a mis queridos hermanos y familiares, les dedico este trabajo como testimonio de mi profundo agradecimiento por su apoyo incondicional a lo largo de este camino.

AGRADECIMIENTO

Expreso mi sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por brindarme el espacio necesario para mi formación académica. Además, deseo expresar mi gratitud a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, así como a todos los docentes que han sido verdaderos, guías en mi formación.

Quiero destacar especialmente el apoyo y la orientación brindados por mi asesora, la Mg. Anahí Karina Cardona Rivero, en el desarrollo de este trabajo de investigación, por su invaluable contribución.

Extendido mi agradecimiento a mi compañero de tesis y a todas las personas que participaron en este estudio, su colaboración ha sido fundamental para el éxito de este trabajo.

ISAURA ACHAHUI CHUCTAYA

DEDICATORIA

Dedico la elaboración y culminación de esta investigación a mis padres, Mario y Basilia, cuyo apoyo incondicional y comprensión constante fueron fundamentales en mi camino. Agradezco también a mis hermanos por sus sabios consejos. Quiero destacar de manera especial a mi esposa, Mirian, y a mis hijos, Leonel y Valeria, quienes fueron mi mayor fuente de motivación y sostén durante todo este proceso de formación profesional.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por haberme permitido llegar a este momento y concluir este trabajo de investigación. También quiero expresar mi profundo agradecimiento a mis asesoras, por su constante asistencia, consejos, conocimientos y dedicación. Agradezco especialmente a mi compañera de tesis, Isaura Achahui Chuctaya, por su paciencia y comprensión durante el proceso de desarrollo y ejecución del trabajo de investigación.

Asimismo, deseo reconocer y agradecer a todos mis docentes de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica por las enseñanzas y conocimientos impartidos durante todo el proceso de mi formación profesional.

ALEXANDER QUISPE HUAMAN

INDICE

| | |
|--------------------|-----|
| RESUMEN | IX |
| ABSTRACT | X |
| ABREVIATURAS..... | XI |
| INTRODUCCIÓN | XII |

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

| | | |
|-------|---|---|
| 1.1 | Planteamiento del problema | 1 |
| 1.2 | Formulación del problema | 2 |
| 1.3 | Objetivos de la investigación..... | 2 |
| 1.3.1 | Objetivo general | 2 |
| 1.3.2 | Objetivos específicos | 2 |
| 1.4 | Justificación de la investigación | 3 |
| 1.5 | Hipótesis..... | 4 |
| 1.6 | Delimitaciones | 4 |

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

| | | |
|---------|---|----|
| 2.1 | Visión Histórica | 5 |
| 2.2 | Antecedentes del estudio | 7 |
| 2.2.1 | Antecedentes a nivel internacional | 7 |
| 2.2.2 | Antecedente a nivel nacional | 10 |
| 2.2.3 | Antecedente a nivel local | 12 |
| 2.3 | Bases teóricas y científicas | 14 |
| 2.3.1 | Abeja | 14 |
| 2.3.1.1 | Colmena | 14 |
| 2.3.1.2 | Anatomía | 16 |
| 2.3.1.3 | Los productos del colmenar | 17 |
| 2.3.2 | Miel de abeja | 17 |
| 2.3.2.1 | Definición | 17 |
| 2.3.2.2 | Clasificación de la miel de néctar o de flores..... | 18 |

| | | |
|----------|---|----|
| 2.3.3 | Componentes de la miel..... | 19 |
| 2.3.4 | Propiedades de la miel como medicina | 22 |
| 2.3.5 | Radicales libres y Antioxidantes | 23 |
| 2.3.5.1 | Radicales libres. | 23 |
| 2.3.5.2 | Los radicales libres pueden contribuir al desarrollo de diversas enfermedades | 24 |
| 2.3.5.3 | Estrés Oxidativo | 25 |
| 2.3.5.4 | Antioxidantes..... | 26 |
| 2.3.5.5 | Actividad prooxidante de los polifenoles | 28 |
| 2.3.6 | Polifenoles..... | 29 |
| 2.3.6.1 | Ácidos Fenólicos | 30 |
| 2.3.6.2 | Flavonoides | 31 |
| 2.3.7 | Determinación y cuantificación de sustancias antioxidantes | 33 |
| 2.2.7.1. | Contenido de polifenoles totales..... | 33 |
| 2.2.7.2. | Contenido de flavonoides | 34 |
| 2.2.7.1. | Ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)..... | 34 |
| 2.3.8 | NORMAS RELATIVAS A LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA MIEL..... | 36 |
| 2.3.9 | NORMAS RELATIVAS A LA CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA MIEL | 36 |
| 2.3.10 | Metabolitos secundarios con actividad antibacteriana. | 37 |
| 2.3.11 | <i>Streptococos pneumoniae</i> | 38 |
| 2.3.11.1 | Definición | 38 |
| 2.3.11.2 | Características..... | 39 |
| 2.3.11.3 | Mecanismo de propagación y transmisión | 40 |
| 2.3.11.4 | Infección..... | 40 |
| 2.3.11.5 | Tratamiento farmacológico | 40 |
| 2.3.12 | Características de las áreas de estudio..... | 42 |
| 2.3.12.1 | La miel multifloral | 45 |
| 2.3.13 | Origen de la miel | 47 |
| 2.3.13.1 | La miel de eucalipto (<i>Eucalyptus globulus</i>) | 47 |
| 2.4 | Marco conceptual..... | 49 |

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

| | | |
|-------|---|----|
| 3.1 | Materiales | 50 |
| 3.1.1 | Material de estudio (obtención de miel) | 50 |

| | | |
|----------|--|----|
| 3.1.2 | Material Biológico | 50 |
| 3.1.3 | Material laboratorio | 50 |
| 3.1.4 | Equipos de laboratorio | 51 |
| 3.1.5 | Medios de cultivo..... | 51 |
| 3.1.6 | Medios de cultivo para control microbiológico | 51 |
| 3.1.7 | Reactivos | 51 |
| 3.1.8 | Otros materiales..... | 52 |
| 3.1.9 | Ubicación, tiempo y espacio de estudio | 52 |
| 3.2 | METODOLÓGIA | 53 |
| 3.2.1 | Diseño de la investigación..... | 53 |
| 3.2.2.1. | Evaluación de los parámetros fisicoquímicos | 53 |
| 3.2.2.2. | Determinación del contenido de polifenoles totales Mediante el método descrito por Pérez et al., con el reactivo Folin Ciocalteu..... | 53 |
| 3.2.2.3. | Determinación del contenido de flavonoides totales Mediante el método desarrollado por Zhishen et al. Con el reactivo cloruro de aluminio (AlCl ₃) | 54 |
| 3.2.2.4. | Determinación de la actividad antioxidante. Método Colorímetro por DPPH, modificado por Brad Williams et al..... | 55 |
| 3.2.2.5. | Determinación de la actividad antibacteriana de miel de abeja frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 mediante el método de dilución en caldo | 55 |
| 3.2.2.6. | Determinación de la actividad antibacteriana de miel de abeja frente a e <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 método dilución en | 56 |
| 3.3 | Identificación y operacionalización de variables | 57 |
| 3.3.1 | Variable independiente | 57 |
| 3.3.2 | Variable dependiente..... | 57 |
| 3.3.2.1. | Estudio fisicoquímico | 57 |
| 3.3.2.2. | Contenido de polifenoles totales de miel de abeja multifloral y de eucalipto de origen <i>Apis mellifera</i> Lin | 57 |
| 3.3.2.3. | Contenido de flavonoides totales de miel de abeja multifloral y de eucalipto | 58 |

| | | |
|----------|--|----|
| 3.3.2.4. | Actividad antioxidante | 59 |
| 3.3.2.5. | Actividad antibacteriana in vitro de la miel de abeja multiflora y de eucalipto..... | 59 |
| 3.3.2.6. | Actividad antibacteriana in vitro de la miel de abeja multiflora y de eucalipto..... | 60 |
| 3.3.3 | Operacionalización de las variables | 61 |
| 3.4 | Criterios de exclusión e inclusión | 62 |
| 3.5 | Procedimiento general de la investigación | 63 |
| 3.5.1 | Obtención y preparación de la muestra miel de abeja..... | 64 |
| 3.5.2 | Control microbiológico de las muestras | 64 |
| 3.5.3 | Estudio fisicoquímico | 65 |
| 3.5.4 | Determinación de la capacidad antioxidante y sus componentes | 66 |
| 3.5.4.1. | Contenido de polifenoles totales..... | 66 |
| 3.5.4.2. | Contenido de flavonoides | 68 |
| 3.5.4.3. | Ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)..... | 70 |
| 3.6 | Determinación de la actividad antibacteriana | 70 |
| 1.6.1. | Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CMI) por el método de dilución en caldo frente a cepas de <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 | 72 |
| 1.6.2. | Determinación de la concentración bactericida mínima (CMB) por conteo de colonias | 72 |

CAPITULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

| | | |
|-----|---|----|
| 4.1 | Recolección de la muestra de la miel de abeja multiflora y de eucalipto | 74 |
| 4.2 | Control microbiológico de la miel de abeja multiflora y de eucalipto | 74 |
| 4.3 | Análisis fisicoquímico de las mieles multiflora y de eucalipto..... | 75 |
| 4.4 | Cuantificación de polifenoles totales por espectrofotometría UV | 78 |
| 4.5 | Cuantificación de flavonoides por espectrofotometría UV | 83 |
| 4.6 | Actividad antioxidante de las mieles multiflora y de eucalipto | 88 |
| 4.7 | Actividad antibacteriana in vitro de las mieles multiflora y de eucalipto frente a <i>S. pneumoniae</i> | 89 |

| | | |
|-------|---|------------|
| 4.7.1 | Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) por dilución en caldo | 90 |
| 4.7.2 | Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) por método de dilución en agar | 93 |
| | CONCLUSIONES | 96 |
| | SUGERENCIA Y RECOMENDACIONES | 98 |
| | BIBLIOGRAFÍA | 99 |
| | ANEXOS..... | 109 |
| | REGISTRO FOTOGRÁFICO | 169 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1: Clasificación taxonómica de abeja (<i>Apis mellifera</i>)..... | 14 |
| Tabla 2: anatomía de la abeja (<i>Apis mellifera</i>)..... | 16 |
| Tabla 3: Componentes principales en la miel..... | 20 |
| Tabla 4: Vitaminas presentes en la miel | 20 |
| Tabla 5: Minerales presentes en la miel..... | 20 |
| Tabla 6 Principales enzimas presentes en la miel y su función..... | 22 |
| Tabla 7 Clasificación y abreviatura de los radicales libres. | 24 |
| Tabla 8: Los radicales libres pueden desarrollar diversas enfermedades | 25 |
| Tabla 9: Antioxidantes endógenos..... | 27 |
| Tabla 10: antioxidantes exógenos..... | 28 |
| Tabla 11 Clasificación de compuestos fenólicos en diferentes mieles | 30 |
| Tabla 12 Clasificación de compuestos flavonoides encontrados en las mieles..... | 32 |
| Tabla 13: Estructura química y biodisponibilidad de los ácidos fenólicos y flavonoides | 32 |
| Tabla 14 criterio microbiológico según la MINSA para la miel de abeja..... | 36 |
| Tabla 15 Parámetros de calidad de la miel de según la norma técnica peruana 209.168. | 36 |
| Tabla 16: Taxonomía de <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 39 |
| Tabla 17: Tratamiento farmacológico..... | 40 |
| Tabla 18 Datos meteorológicos de temperatura y precipitación resumidos por meses . | 43 |
| Tabla 19: Flora representativa del ecosistema Matorral de Huarán..... | 45 |
| Tabla 20: Variable independiente | 61 |
| Tabla 21: Variable dependiente | 61 |
| Tabla 22: Variable dependiente (Continuación) | 62 |
| Tabla 23: Análisis microbiológico | 64 |
| Tabla 24: Curva de calibración de ácido gálico..... | 67 |
| Tabla 25: Cuantificación de polifenoles en las muestras | 68 |
| Tabla 26: curva de calibración de Quercetina | 69 |
| Tabla 27: Cuantificación de flavonoides en la muestra | 70 |
| Tabla 28: Porcentaje y concentraciones establecidas de las mieles..... | 71 |
| Tabla 29: Control microbiológico de las mieles multifloral y de eucalipto..... | 74 |
| Tabla 30: Resultados del análisis fisicoquímico para cada tipo de miel | 75 |
| Tabla 31: Valores de absorbancia para la curva de calibración con ácido gálico | 79 |

| | |
|---|-----------|
| Tabla 32: Valores de absorbancia de las mieles multifloral y de eucalipto para determinación del contenido de polifenoles totales. | 80 |
| Tabla 33 Valores de las mieles multifloral y de eucalipto para determinación del contenido de polifenoles totales en expresión final en equivalentes de ácido gálico. | 81 |
| Tabla 34: Valores de absorbancia para la curva de calibración con quercetina..... | 83 |
| Tabla 35: Valores de absorbancia de las mieles multifloral y de eucalipto para determinación del contenido de flavonoides totales. | 85 |
| Tabla 36 Valores de las mieles multifloral y de eucalipto para determinación del contenido de flavonoides totales en expresión final en equivalentes en quercetina..... | 86 |
| Tabla 37: Actividad antioxidante por colorímetro DPPH y porcentaje de inhibición de las mieles multifloral y de eucalipto..... | 88 |
| Tabla 38: Concentraciones de trabajo y lecturas de absorbancia | 90 |
| Tabla 39: Concentraciones de trabajo y conteo de colonias | 93 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 Pintura rupestre en la Cueva de la araña, en Bicorp, Valencia y pintura rupestre Toghwana Dam, en Zimbabwe | 5 |
| Figura 2 Pintura rupestre de egipcios..... | 6 |
| Figura 3: anatomía de la abeja (<i>Apis mellifera</i>)..... | 16 |
| Figura 4: Proceso de la producción de la miel..... | 18 |
| Figura 5: Efecto beneficioso del consumo de miel. | 23 |
| Figura 6 Balance de antioxidante y prooxidante | 26 |
| Figura 7: Interacción entre un radical libre y un antioxidante..... | 27 |
| Figura 8: Clases de polifenoles y estructuras químicas de algunos de sus principales compuestos | 29 |
| Figura 9: Estructura química del ácido fenólico | 30 |
| Figura 10: Núcleo base de un flavonoide | 31 |
| Figura 11: Reacción redox general en el ensayo de Folin-Ciocalteu. | 33 |
| Figura 12 Mecanismo acción por el cual el DPPH• acepta un hidrogeno de una molécula antioxidante | 35 |
| Figura 13: Esquema de la pared bacteriana gram-positiva A: Estructura del ácido teicoico constituido por fosfato, glicerol B: Ácidos teicoico y lipoteicoico de la pared celular..... | 39 |
| Figura 14: Mecanismo de acción en general | 41 |
| Figura 15 cromatografía de la estación meteorológica..... | 44 |
| Figura 16: Columna agrupada de los parámetros fisicoquímicos calculados para los 2 tipos de mieles. | 76 |
| Figura 17: Figura de dispersión y línea de tendencia, de la calibración del ácido gálico como estándar de polifenoles totales..... | 79 |
| Figura 18: Gráfico de barras para el contenido teórico de polifenoles totales para cada muestra de miel. | 82 |
| Figura 19: Gráfico de dispersión y línea de tendencia, de la calibración de la quercetina como estándar de flavonoides totales..... | 84 |
| Figura 20: Gráfico de barras para el contenido teórico de flavonoides totales para cada muestra de miel. | 87 |
| Figura 21: Porcentaje de inhibición de las mieles multifloral y de eucalipto | 88 |
| Figura 22: Gráfico de dispersión y línea de tendencia, de las absorbancias de los caldos de cultivo con <i>S. pneumoniae</i> junto a diversas concentraciones de (a) miel multifloral y (b) miel de eucalipto. | 91 |
| Figura 23: Gráfico de dispersión y línea de tendencia, del conteo de colonias de <i>S. pneumoniae</i> junto a diversas concentraciones de (a) miel multifloral y (b) miel de eucalipto. | 94 |

RESUMEN

El estrés oxidativo y la infección bacteriana por *Streptococcus pneumoniae* es un problema para la salud por eso es importante el estudio de antioxidante y antibacterianos como la miel de abeja. El presente trabajo se propuso como objetivo evaluar los parámetros fisicoquímicos, actividad antioxidante y actividad antibacteriana in vitro frente a cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 de la miel de abeja multifloral (*Apis mellifera*) Huarán Calca y miel de eucalipto Chacán Anta Cusco 2023 y como metodología para contenido de polifenoles totales se usó, el método desarrollado por Pérez et al., para flavonoides método desarrollado por Zhishen et al., y método Colorímetro por DPPH, modificado por Brad Williams et al.. Los resultados la ceniza calculados tanto en la miel multifloral (0.06%) como en la de eucalipto (0.03%) están dentro del rango aceptable según la Norma Técnica Peruana (NTP), la densidad, la miel multifloral (1.42 g/cm³) y de eucalipto (1.44 g/cm³) es mínima. El pH calculados para la miel multifloral (3.46) y la miel de eucalipto (3.26), la diferencia entre la acidez de la miel multifloral (9.06 meq/Kg) y de eucalipto (25.09 meq/Kg), indica que la miel de eucalipto contiene una mayor cantidad de ácidos orgánicos. Según la NTP 209.174-1999 la humedad de la miel multifloral y de eucalipto (16.58% y 15.98%, respectivamente) se encuentra dentro del límite de 21% permitido por la NTP 209.171-1999 y el contenido de hidroximetilfurfural (HMF) los valores son de 18.8 mg/kg y 6.2 mg/kg respectivamente, ambos por debajo del límite de 80 mg/kg establecido por la NTP 209.176 y finalmente, el contenido de glucosa y fructosa para la miel multifloral (53.88%) y eucalipto (77.62%). Contenido de polifenoles totales miel multifloral: 27.70 mg EAG/100 g de miel y miel de eucalipto: 44.51 mg EAG/100 g de miel, flavonoides miel multifloral: 12.83 mg EQ/100 g de miel y miel de eucalipto: 7.97 mg EQ/100 g de miel, y por el método colorímetro DPPH se obtuvo % Inhib. 46.9 de multifloral 77.9 de miel de eucalipto. Para la concentración mínima inhibitoria (CMI) reportamos para la miel multifloral (0.5038 g/ml) y la de eucalipto (0.5078 g/ml). Para la concentración mínima bactericida (CMB) para la miel multifloral (0.70 g/ml) y la de eucalipto (0.61 g/ml). Afirmando que las dos muestras presentan actividad antibacteriana frente a las cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.

En conclusión, la miel multifloral y la miel de eucalipto cumplen con la mayoría de los estándares de calidad, según su origen botánico y composición química, así mismo ambas mieles presentan sus propiedades antioxidantes y actividad antibacterianos con variaciones, como fuentes naturales para futuras investigaciones.

Palabra clave: Parámetros, antioxidante, DPPH, flavonoides, ácidos fenólicos, antibacteriana, macro dilución.

ABSTRACT

Oxidative stress and bacterial infection by *Streptococcus pneumoniae* is a health problem, which is why the study of antioxidants and antibacterials such as honey is important. The present work aimed to evaluate the physicochemical parameters, antioxidant activity and in vitro antibacterial activity against *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 strains of multifloral bee honey (*Apis mellifera*) Huarán Calca and eucalyptus honey Chacán Anta Cusco 2023 and as a methodology for total polyphenol content, the method developed by Pérez et al., for flavonoids the method developed by Zhishen et al., and the Colorimeter method by DPPH, modified by Brad Williams et al. The results the ash calculated both in multifloral honey (0.06%) and in eucalyptus honey (0.03%) are within the acceptable range according to the Peruvian Technical Standard (NTP), the density, multifloral honey (1.42 g / cm³) and eucalyptus honey (1.44 g / cm³) is minimal. The pH calculated for multifloral honey (3.46) and eucalyptus honey (3.26), the difference between the acidity of multifloral honey (9.06 meq/Kg) and eucalyptus honey (25.09 meq/Kg), indicates that eucalyptus honey contains a greater amount of organic acids. According to NTP 209.174-1999 the humidity of multifloral and eucalyptus honey (16.58% and 15.98%, respectively) is within the limit of 21% allowed by NTP 209.171-1999 and the content of hydroxymethylfurfural (HMF) values are 18.8 mg/kg and 6.2 mg/kg respectively, both below the limit of 80 mg/kg established by NTP 209.176 and finally, the glucose and fructose content for multifloral honey (53.88%) and eucalyptus (77.62%). Total polyphenol content in multifloral honey: 27.70 mg EAG/100 g of honey and eucalyptus honey: 44.51 mg EAG/100 g of honey, flavonoids in multifloral honey: 12.83 mg EQ/100 g of honey and eucalyptus honey: 7.97 mg EQ/100 g of honey, and by the DPPH colorimeter method it was obtained % Inhib. 46.9 of multifloral 77.9 of eucalyptus honey. For the minimum inhibitory concentration (MIC) we report for multifloral honey (0.5038 g/ml) and eucalyptus honey (0.5078 g/ml). For the minimum bactericidal concentration (MBC) for multifloral honey (0.70 g/ml) and eucalyptus honey (0.61 g/ml). Stating that both samples present antibacterial activity against *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 strains.

In conclusion, multifloral honey and eucalyptus honey meet most of the quality standards, according to their botanical origin and chemical composition, and both honeys present their antioxidant properties and antibacterial activity with variations, as natural sources for future research.

Keyword: Parameters, antioxidant, DPPH, flavonoids, phenolic acids, antibacterial, macro dilution.

ABREVIATURAS

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de salud

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

OIE: Organización Mundial de Sanidad Animal

MINSA: Ministerio de Salud

ORAC: Capacidad de absorbanza de radicales de oxígeno

ROS: Especies Reactivas de Oxígeno

CDC: Control y la Prevención de Enfermedades

DPPH: 1,1-difenil-2-picrihidrazil

IC50: La concentración requerida para lograr una inhibición del 50% en la actividad biológica, en comparación con un control sin tratamiento.

NAC: Neumonía adquirida en la comunidad

SIREVA: Sistema Regional de Vacunas

ATCC: American Type Culture Collection

NTP: Norma Técnica Peruana

IRA: Infecciones respiratorias agudas

CMI: Concentración mínima inhibitoria

CMB: Para la concentración mínima bactericida

INTRODUCCIÓN

La miel de abeja (*Apis mellifera*) es un producto natural de alto valor nutricional y terapéutico, ampliamente reconocido por sus propiedades antioxidantes, antibacterianas y su rica composición química. Su perfil fisicoquímico, así como su actividad biológica, puede variar en función de múltiples condiciones climáticas geográficas, el origen botánico del néctar, los métodos de procesamiento y almacenamiento.(1)

La miel multifloral, obtenida de diversas fuentes florales, y la miel unifloral (*Eucalyptus globulus*), derivada del néctar del árbol de eucalipto, presentan características diferenciadas que podrían influir en su perfil bioactivo. En Perú hay pocos estudios sobre la miel de abeja enfocados en sus propiedades antioxidantes y antibacterianas, por ese motivo se estudió la actividad antioxidante mediante cuantificación de polifenoles, flavonoides y el método de DPPH y la actividad antibacteriana por el método de dilución en agar con las cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 en las mieles de abeja (*Apis mellifera*) multifloral recolectadas del centro poblado de Huarán (Calca) y miel de Eucalipto del centro poblado de Chacán (Anta), Cusco.

Los compuestos antioxidantes en las mieles tales como flavonoides y fenoles presentan beneficios terapéuticos, tanto en las industrias alimentaria y cosmética. (2) mientras que los polifenoles, actúan como antioxidantes, y alcanzan a retrasar o inhabilitar la oxidación y neutralizar los impactos negativos de los radicales libres, causantes de las enfermedades crónicas. (3)

Las altas tasas de enfermedad y mortalidad ligadas a *Streptococcus pneumoniae* persisten a nivel global, en niños y adultos mayores. La principal vía de transmisión de esta bacteria es por vía aérea, la mayoría de las personas portadoras de *Streptococcus pneumoniae* pueden no experimentar síntomas.(4)

La biodiversidad de Perú incluye una gran variedad de plantas medicinales y tienen un valor incalculable tanto cultural como científicamente. La región de Cusco alberga valles andinos donde crecen tanto plantas nativas como especies introducidas, las cuales se han adaptado al clima. Además, la miel obtenida en estas praderas tiene diversas propiedades, influenciadas por la flora local.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

1.1 Planteamiento del problema

La miel producida por la abeja (*Apis mellifera*) según los estudios tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antibacterianas, su actividad biológica varían según el origen botánico y geográfico del néctar de las flores que visitan las abejas. (5) Estas variaciones son relevantes, especialmente en el contexto infecciones respiratorias agudas (IRA) producido por bacterias y enfermedades crónicas, causados por radicales libres. (6) Sin embargo, en el Perú existe una limitada investigación sobre propiedades nutricionales y medicinales de los distintos tipos de miel multifloral y unifloral.

El estilo de vida contemporáneo, marcado por una elevada ingesta de alimentos ultraprocesados, una exposición constante a múltiples agentes químicos y una actividad física insuficiente, contribuye a la generación de estrés oxidativo. Este fenómeno fisiopatológico se asocia estrechamente con el inicio y la progresión de diversas enfermedades crónicas, incluidas patologías cardiovasculares, diabetes mellitus, trastornos neurodegenerativos, procesos oncológicos y el envejecimiento.(7)

Uno de los problemas de salud pública a nivel internacional, son las enfermedades cardiovasculares (ECV) representan la primordial causante de defunción, aproximadamente el 32% de todas las defunciones, citado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) indicando que, el 85% son causantes de infartos y accidentes cerebrovasculares. (8) En Perú son las enfermedades cardiovasculares, responsables del 29.7% de todas las muertes, ocupando primer lugar y seguido por cáncer, según estadísticas del Ministerio de Salud (MINSA). (9) Estas cifras alarmantes insiste la necesidad de estudios científicos, para encontrar estrategias efectivas para la prevención y tratamiento de estas enfermedades, donde el estrés oxidativo juega un papel crucial en su desarrollo.

Otro problema a nivel nacional, en Perú enfrenta además un incremento preocupante en las infecciones respiratorias, siendo la neumonía como una de las principales causas de enfermedad y muerte, especialmente en niños menores de cinco años y adultos mayores. Según el Ministerio de Salud (MINSA), los casos de neumonía en niños han aumentado en un 47.5% respecto a los niveles registrados antes de la pandemia, mientras que en adultos mayores el incremento ha sido del 28.3%. (10) El principal patógeno asociado a la neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es la bacteria *Streptococcus pneumoniae*, una bacteria que

ha desarrollado una creciente resistencia a los antibióticos que ha aumentado en los últimos años, lo que complica el tratamiento de estas infecciones. (11)

Frente a estos problemas de salud pública, se plantea el estudio sobre la miel de abeja por su valor nutricional y sus propiedades medicinales. Por ello, la presente investigación busca evaluar los parámetros fisicoquímicos, la actividad antioxidante y antibacteriana de la miel multifloral (*Apis mellifera*) de Huarán Calca y miel de eucalipto de Chacán Anta, departamento del Cusco. Para contribuir con el cocimiento para futuras investigaciones y también aportar con una base científica las propiedades de estas mieles y que respalde su utilización.

1.2 Formulación del problema

¿Cómo serán los parámetros fisicoquímicos y cuál será la actividad antioxidante y antibacteriana in vitro frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 en muestras de miel multifloral (*Apis mellifera*) de Huarán Calca y miel de eucalipto de Chacán Anta Cusco 2023?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Evaluar los parámetros fisicoquímicos, la actividad antioxidante y la actividad antibacteriana in vitro frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 en muestras de miel multifloral (*Apis mellifera*) de Huarán (Calca) y miel de eucalipto de Chacán (Anta) Cusco 2023

1.3.2 Objetivos específicos

1. Evaluar los parámetros fisicoquímicos de la miel de abeja (*Apis mellifera*) multifloral y de eucalipto y comparar con la Norma técnica peruana NTP 209.
2. Cuantificar las sustancias antioxidantes: flavonoides y polifenoles totales, de la miel de abeja (*Apis mellifera*) multifloral y miel de eucalipto.
3. Determinar la actividad antioxidante, de la miel de abeja (*Apis mellifera*) multifloral y miel de eucalipto.
4. Evaluar la actividad antibacteriana in vitro frente a las cepas *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, en muestras de miel multifloral (*Apis mellifera*) de Huarán Calca y miel de eucalipto de Chacán Anta
5. Realizar una comparación entre las muestras de miel multifloral y miel de eucalipto (*Apis mellifera*), evaluando sus propiedades fisicoquímicas, actividad antioxidante y antibacteriana.

1.4 Justificación de la investigación

Justificación en conocimiento

El presente estudio contribuirá al conocimiento existente mediante la caracterización de mieles específicas, generando datos valiosos que pueden servir para futuras investigaciones en las áreas de la medicina y nutracéutica. En Perú, y específicamente en Cusco, donde existe un ecosistema único, se observa una marcada escasez de estudios sobre las propiedades de la miel de abeja. Esta situación justifica la necesidad de realizar investigaciones, ya que la miel posee propiedades antibacterianas y antioxidantes. Este estudio se alinea con las prioridades nacionales e internacionales de identificar soluciones innovadoras para enfrentar la resistencia bacteriana y promover mejoras en la salud pública. Dado que numerosas enfermedades crónicas, como las cardiovasculares y el cáncer, presentan una alta tasa de morbilidad, resulta fundamental enriquecer la dieta con antioxidantes que protegen contra los radicales libres. (9) Además, la investigación sobre la creciente resistencia a los antibióticos, especialmente en bacterias como *Streptococcus pneumoniae*, constituye una prioridad en la agenda de salud pública tanto global como local. (10)

Justificación en aplicabilidad

Los árabes, egipcios fueron los primeros pioneros en introducir aplicaciones farmacéuticas en el mundo occidental, dieron origen a nuevos preparados farmacéuticos como los jarabes, sentando las bases para el uso terapéutico de productos naturales. (12) La investigación se fundamenta en dos aspectos principales: la capacidad antioxidante y la actividad antibacteriana de miel multiflorales de la época lluviosa y mieles monoflorales de eucalipto de la estación seca de los valles de Cusco. La identificación de mieles según su origen floral, con propiedades antioxidantes y antibacterianas destacadas, podría ofrecer una alternativa terapéutica en el manejo de infecciones bacterianas y en la reducción del estrés oxidativo. Estos factores son cruciales en la prevención de enfermedades crónicas y en el tratamiento de neumonías causadas por bacterias resistentes a los antibióticos. Este estudio se realiza con el objetivo de prevalecer la salud de la población y mejorar el estilo de vida de las personas que buscan productos alternativos y naturales.

justificación Social y económica

Responde a la necesidad de encontrar tratamientos alternativos y complementarios que puedan aliviar la carga de enfermedades prevalentes y mejorar la calidad de vida de los afectados. La miel, con su potencial como agente antioxidante y antibacteriano, ofrece una opción accesible

y natural que podría integrarse en programas de salud preventiva. Esto es particularmente relevante en comunidades rurales y en sectores de la población con limitado acceso a medicamentos convencionales, donde la adopción de terapias basadas en productos naturales podría ser más viable y aceptada culturalmente. Además, la identificación y promoción de mieles con propiedades terapéuticas específicas podría incentivar la apicultura local y regional, generando nuevas oportunidades de empleo y fortaleciendo las economías rurales y la biodiversidad de flora principalmente de las plantas nativas del local.

1.5 Hipótesis

Las muestras de miel multifloral (*Apis mellifera*) de Huarán Calca y miel de eucalipto de Chacán Anta Cusco, presentan diferencias en sus parámetros fisicoquímicos, y así mismo presentan actividades antioxidantes y actividad antibacteriana in vitro frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.

1.6 Delimitaciones

- El acceso limitado a recursos en línea privados, incluyendo bibliotecas especializadas, tesis publicadas con restricción en los repositorios web de las universidades nacionales e internacionales y otros artículos recientes, constituyó una limitación para este estudio en términos de obtener información relevante para la investigación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

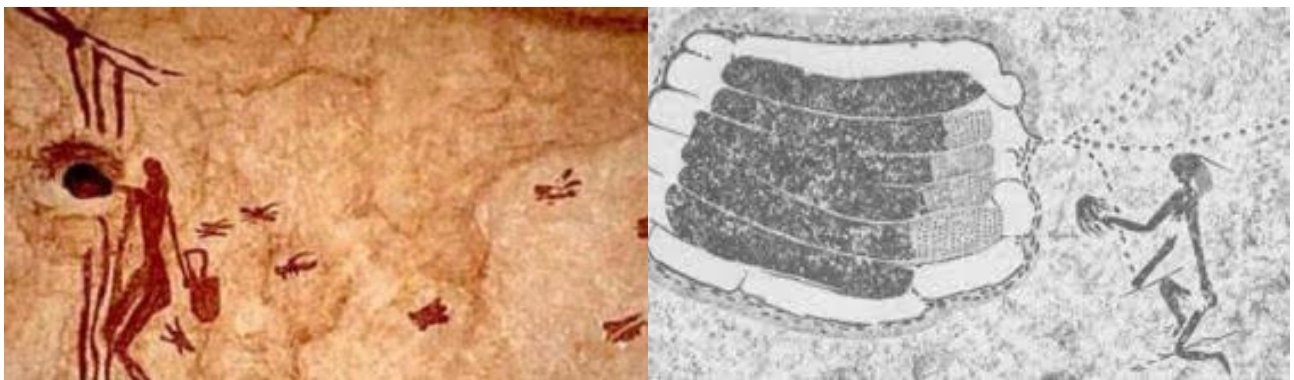
2.1 Visión Histórica

Este análisis histórico se centra en la evolución del uso de la miel desde sus orígenes hasta su relevancia actual en el campo de la industria farmacéutica.

Orígenes Prehistóricos

La historia de la miel se remonta al instante en que las abejas y las flores vienen. Los primeros registros del uso de la miel datan de hace más de 8,000 años. Pinturas rupestres encontradas en cuevas de España, Sudáfrica (Zimbabue) muestran a seres humanos recolectando miel de colmenas silvestres. Estas representaciones sugieren que la miel ya era un recurso valioso para las sociedades de cazadores-recolectores, utilizada tanto como alimento como en prácticas medicinales. (13)

Figura 1 Pintura rupestre en la Cueva de la araña, en Bicorp, Valencia y pintura rupestre Toghwana Dam, en Zimbabwe



Fuente: Martines F. et al. Apuntes de apicultura, 2006. (13)

Antiguo Egipto

En la cultura del antiguo Egipto, la miel era considerada un regalo de los dioses y se utilizaba ampliamente en la alimentación, la medicina y los rituales religiosos(ofrendas). Los egipcios empleaban la miel para tratar heridas y enfermedades, aprovechando sus propiedades antibacterianas y conservantes(de carnes). Además, la miel se utilizaba en el proceso de embalsamamiento, lo que subraya su importancia cultural y religiosa. (13)

Figura 2 Pintura rupestre de egipcios



Fuente: Martines F. et al. Apuntes de apicultura, 2006. (13)

Grecia y Roma

Los antiguos griegos y romanos también valoraban la miel por sus propiedades curativas y nutritivas. Hipócrates, el padre de la medicina, recomendaba la miel para tratar diversas afecciones, desde úlceras hasta problemas respiratorios. En la mitología griega, la miel era considerada el alimento de los dioses, lo que refleja su estatus elevado en estas culturas. En la civilización Roma consumían los patrios y senadores y utilizaron como conservante de pescado y las fruta, también elaboraron vino a partir de la miel y el hidromiel (licor de los dioses). (13)

Edad Media

Finales del ciclo XV durante la Edad Media, la miel continuó siendo un ingrediente esencial en la medicina y la cocina como un edulcorante antes de la llegada de azúcar a Europa. La cera de abeja era para fabricar velas. Los monjes medievales la utilizaban para preparar remedios herbales y ungüentos. Además, la miel era un conservante natural, crucial para la preservación de alimentos en una época sin refrigeración. (13)

Era Moderna

En el siglo XXI, con los significativos avances en ciencia y tecnología, la miel ha sido objeto de numerosos estudios que han confirmado sus propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes y utilizadas en las industrias alimentarias y farmacéuticas. (14)

2.2 Antecedentes del estudio

2.2.1 Antecedentes a nivel internacional

Nagy-Radványi, L. et al., “Actividad antibacteriana de las mieles varietales húngaras contra patógenos respiratorios en función del tiempo de almacenamiento” Facultad de Farmacia, Universidad de Pécs (Reporte científico) Hungría -2024. (15)

En 2022, se evaluó la actividad antibacteriana de mieles de acacia negra, vara de oro, tilo y girasol recolectadas durante tres años consecutivos (2020, 2021, 2022) frente a bacterias gramnegativas (*Haemophilus influenzae*, *H. parainfluenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*) y grampositivas (*Streptococcus pneumoniae*), como metodología se utilizó dilución en caldo: Concentración Mínima Inhibidora (CMI) y Bactericida (CMB). Resultados a mayor tiempo de almacenamiento de la miel, se necesitaban concentraciones más altas para lograr un efecto inhibitorio. Las mieles de 2020 mostraron una CMI entre 42,5% y 50%, mientras que las de 2022 necesitaron entre 10% y 17,5%. Actividad Antibiofilm: La capacidad de la miel para inhibir la formación de biofilm también disminuyó con el almacenamiento. Las mieles de 2020 tuvieron una tasa de inhibición del 34,7% al 53,4%, mientras que las de 2022 mostraron una inhibición mucho mayor, entre el 67,9% y 83,2%. Efecto Específico: La miel de tilo y girasol mostró la mayor actividad antibacteriana, especialmente contra las cepas de *Haemophilus*, alcanzando hasta un 80% de inhibición de biofilm en las muestras de 2022. Por otro lado, la miel de acacia negra fue la menos activa. Degradación de Membranas: El estudio también exploró el mecanismo de acción de la miel de tilo, encontrando que las mieles más recientes (2022) degradaron las membranas bacterianas a concentraciones más bajas (20%), en comparación con las mieles de años anteriores que requerían concentraciones más altas para el mismo efecto. Microscopía Electrónica de Barrido (MEB): Las imágenes MEB mostraron que la miel de tilo de 2022 inhibió la formación de biopelículas más efectivamente que las muestras más antiguas, con las células de *S. pneumoniae* tratadas mostrando una ruptura celular significativa.

Yayinie M. et al., “Polifenoles, flavonoides y contenido de antioxidantes de la miel combinados con método quimiométrico: clasificación de origen geográfico a partir de región de amhara”, Universidad de Bahir Dar (Artículo de revista) Etiopía-2022, (16)

Como objetivo estudiar 47 muestras de miel fresca de siete áreas administrativas distribuidas en tres provincias del Estado Regional Nacional de Amhara, Etiopía. Estas muestras fueron analizadas mediante la cuantificación del contenido fenólico y la evaluación de sus capacidades antioxidantes utilizando métodos estándar de colorimetría. La Metodología, para polifenoles

totales método descrito por Pérez et al. Se utilizó ácido gálico (GAE) como estándar, y para flavonoides totales, método descrito por Zhishen et al., y se utilizó quercetina como estándar en actividad antioxidante ensayo de DPPH como estándar se utilizó ácido ascórbico.

Los resultados se revelaron que los valores promedio de polifenoles totales, expresados en equivalentes de ácido gálico (GAE), variaron entre 17,03 y 42,04 mg GAE por cada 100 g de miel. En cuanto al contenido promedio de flavonoides, medido en equivalentes de catequina (CE), osciló entre 3,20 y 7,40 mg CE, mientras que utilizando equivalentes de quercetina (QE), fluctuó entre 1,67 y 5,08 mg QE por cada 100 g de muestra de miel. Respecto al contenido de antioxidantes equivalentes al ácido ascórbico (AEAC), se observaron valores que iban desde 16,23 hasta 26,59 mg AEAC por cada 100 g de muestra de miel. Además, el porcentaje de actividades antioxidantes (% AA) varió entre el 23,74% y el 40,11% en las muestras de miel analizadas. En conclusión, se encontró un contenido significativo de fenoles y flavonoides, lo que sugiere que la miel de la región posee cualidades terapéuticas y un alto valor nutricional. Se observaron variaciones significativas en los niveles de fenoles y antioxidantes entre las muestras, relacionadas con el color y el origen geográfico de la miel. Sin embargo, el efecto del clima en las muestras no resultó en variaciones notables en los niveles promedio. Las muestras de miel de la zona de West Gojjam mostraron los valores más altos de fenoles y propiedades antioxidantes, mientras que las de la zona de Wag Himera presentaron los valores más bajos.

Balázs v., Radványi I., et al. “Actividad antibacteriana y antibiofilm in vitro de mieles húngaras contra bacterias del tracto respiratorio” Facultad de Farmacia, Universidad de Pécs (Artículo de revista) Hungría -2021 (17)

El objetivo del estudio, evaluar las propiedades antibacterianas y antibiofilm de muestra de miel de acacia negra, tilo y girasol húngaras contra bacterias del tracto respiratorio tanto gramnegativas como grampositivas en tres sistemas de prueba in vitro. Métodos Ensayo de difusión en pocillos de agar, Ensayo de muerte temporal, Estudio de la degradación de la membrana y ensayo de microdilución.

Resultados en cuanto a *S. pneumoniae*, tanto la miel de tilo como la de acacia negra mostraron una actividad significativamente superior a la de la miel de girasol. Difusión en pocillos de agar: Las muestras de miel fueron más efectivas que las soluciones de azúcar, aunque no se detectaron diferencias significativas en la actividad antibacteriana entre los tipos de miel. Ensayo de muerte temporal: Las mieles de tilo, acacia negra y girasol (40% y 60% p/p) exhibieron actividad bactericida significativa a partir de la segunda hora de tratamiento. La miel

de tilo fue la más efectiva contra ambas bacterias. Degradación de la membrana bacteriana: Las mieles al 40% y 60% p/p mostraron capacidad de inducir bacteriolisis, con *S. pneumoniae* siendo más sensible que *P. aeruginosa*. La miel de tilo destacó nuevamente como la más eficaz. Inhibición de biopelículas: Todas las mieles inhibieron la formación de biopelículas bacterianas, con la miel de tilo mostrando una tasa inhibitoria media superior al 80% contra cada cepa probada. Las muestras de acacia negra presentaron las tasas inhibitorias más bajas (69%-75%). En conclusión, este estudio destacó la eficacia de los tipos de miel húngara en el efecto inhibitor de las mieles de acacia negra, tilo y girasol sobre *S. pneumoniae*; por lo tanto, la novedad de nuestro estudio es indiscutible, la miel de tilo en particular merece más atención como un poderoso agente antibacteriano natural.

Pauliuc D., et.al., “Actividad antioxidante, contenido fenólico total, fenólicos individuales y parámetros fisicoquímicos idoneidad para la autenticación de la miel Rumana”, Universidad Stefan cel Mare de Suceava, (Artículo de revista) Rumania 2020, (18)

Como **Objetivo** se realizó análisis fisicoquímicos, como la determinación del contenido fenólico total y la cuantificación de flavonoides. La metodología; parámetros fisicoquímicos, para polifenoles totales método descrito por Pérez et al., se utilizó ácido gálico (GAE) como estándar, y para flavonoides totales, método descrito por Zhishen et al., y se utilizó quercetina como estándar.

Resultados las muestras de miel Frambuesa tiene polen de *Rubus idaeus*, colza contiene principalmente polen de *Brassica* spp. miel de girasol, de polen de *Helianthus* spp. y miel de menta y tomillo, *Mentha* spp. y *Thymus* spp. Los valores medios de pH de las muestras oscilaron entre 3,91 para la miel de tomillo y 4,22 para la miel de colza. la miel de girasol presentaba la mayor acidez (31,63 meq·kg⁻¹), mientras que la miel de colza tenía la menor (16,01 meq·kg⁻¹), contenido de HMF entre las muestras, con valores que oscilan entre 8,26 mg/kg para la miel de girasol y 50,8 mg/kg para la miel de tomillo. Algunas muestras de menta y tomillo superaron el límite máximo permitido de HMF (40 mg/kg) según la legislación europea. El contenido de flavonoides en la miel de frambuesa contenido más alto (33,58 mg QE·100 g⁻¹) y la miel de tomillo la más baja (17,45 mg QE·100 g⁻¹). El ensayo DPPH se utilizó para evaluar la actividad antioxidante de las muestras, observándose la mayor actividad en las mieles de frambuesa (79,05%) y menta (74,03%), y la menor en las de tomillo (63,77%) y colza (55,49%). Conclusiones; Todas las muestras de miel presentaron valores de pH y acidez libre dentro de los límites permitidos por las normas de calidad, lo que indica la frescura de las muestras. A

excepción de tres muestras (dos de menta y una de tomillo) que mostraron un contenido de HMF superior al límite permitido

2.2.2 Antecedente a nivel nacional

Coronado J., et al. “Caracterización fisicoquímica de miel de abeja (*Apis mellifera L.*) procedentes de la Amazonía Peruana”, Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto (Artículo de revista) Perú 2022 (19)

El presente estudio tuvo como finalidad evaluar las características fisicoquímicas de las mieles recolectadas en los ecosistemas de Alto Mayo y Huallaga Central, ubicados en la región San Martín, aplicando los procedimientos establecidos en la Norma Técnica Peruana. Para ello, se analizaron 20 muestras de miel obtenidas de apiarios situados en las provincias de Rioja (Alto Mayo) y Mariscal Cáceres (Huallaga Central).

Los resultados indicaron que los parámetros fisicoquímicos de las mieles se encontraron dentro de los siguientes rangos: acidez (19,72 a 13,25 meq/kg), pH (4,19 a 3,96), contenido de humedad (19,06 a 17,82%), actividad de agua (0,53 a 0,54), densidad (1,41 a 1,42 g/mL), azúcares reductores (63,00 a 64,95%), sólidos solubles (73,08 a 74,18 °Brix), color (62,57 a 85,55 mm PFund), conductividad eléctrica (0,26 a 0,41 mS/ cm), contenido de cenizas (0,23 a 0,52%), hidroximetilfurfural (14,30 a 15,0 mg/kg).

Conclusiones: En este estudio, dos mieles de abejas de dos diferentes ecosistemas de la región amazónica peruana, Alto Mayo y Huallaga Central en el departamento de San Martín, fueron caracterizada. La mayoría de los parámetros no mostraron diferencias significativas diferencias entre ellos. Sin embargo, en el ámbito fisicoquímico, características de pH, color, conductividad eléctrica y ceniza. contenido, se expresaron diferencias estadísticas. La miel del Alto Mayo es más ligera que la miel del Huallaga Central, reflejado en los valores de color, eléctricos conductividad y contenido de cenizas. La mayor parte de los fisicoquímicos. Parámetros de las muestras de miel de abeja del Alto Mayo. y los ecosistemas del Huallaga Central se encuentran dentro de los parámetros establecidos y requeridos por normas nacionales e internacionales regulaciones

Muñoz A., Ortiz C., et al. “Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales” Artículo de revista Universidad nacional Mayor de San Marcos, (Artículo de revista) Perú 2014. (3)

Como objetivo, se determinó los polifenoles totales (fenólicos y flavonoides) y capacidad antioxidante. La Metodología, para polifenoles totales método descrito por Pérez et al. Se utilizó ácido gálico (GAE) como estándar, y para flavonoides totales, método descrito por Zhishen et al., y se utilizó quercetina como estándar en actividad antioxidante ensayo de DPPH como estándar se utilizó ácido ascórbico y determinación de compuestos fenólicos por HPLC.

Los resultados el estudio abarcó doce variedades de miel de diversas marcas recolectadas en supermercados de Lima. Se destacó la miel silvestre del callejón de Huaylas por su elevado contenido de fenoles, alcanzando los 207,89 mg por cada 100 g. En contraste, la miel multifloral de Piura lideró en cuanto a contenido de flavonoides totales y apigenina, registrando 3,839 mg QE/100 g y 1,799 ppm, respectivamente. Sin embargo, mostró una menor capacidad de inhibición del anión superóxido, con un 53,21%. Por su parte, la miel de eucalipto de la sierra central sobresalió por su alta capacidad antioxidante según el método ABTS, con 68,452 µg TEAC por cada 100 g, así como por su destacada capacidad de inhibición del anión superóxido, alcanzando un 64,73%, la miel de zapote en panal de Piura presentó un contenido más bajo de flavonoides totales, con 0,914 mg QE/100 g, pero se distinguió por su fuerte capacidad de inhibición de radicales oxhidrilos, llegando al 54,80%, y por su contenido de ácido clorogénico de 0,866 mg/kg. Además, se identificó un nivel más elevado de ácido coumárico en la miel de algarrobo, con 1,572 ppm. Conclusiones, se encontraron diferencias notables entre las variedades de miel estudiadas. La miel silvestre del callejón de Huaylas se destacó por su contenido elevado de fenoles, mientras que la multifloral de Piura lideró en contenido de flavonoides totales. La miel de eucalipto (sierra central) mostró una fuerte capacidad antioxidante y de inhibición del anión superóxido. Estos resultados confirman que la miel posee una significativa capacidad antioxidante, la cual está relacionada con la presencia de compuestos fenólicos y varía dependiendo de su origen floral y procedencia.

Adrianzén R., et al., Efecto in vitro de la miel de *Apis mellifera* frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Tesis pregrado de la universidad nacional de Trujillo Perú 2017 (20)

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto in vitro de la miel de *Apis mellifera* contra *Escherichia coli* y *Candida albicans*, determinando sus características fisicoquímicas, metabolitos secundarios, y las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y bactericidas (CMB). La miel utilizada provino de la provincia de San Ignacio, en el departamento de Cajamarca, Perú. Todas las pruebas fisicoquímicas cumplieron con los estándares del Codex Alimentarius y el Consejo Nacional de la Miel.

Los resultados mostraron que la acidez libre fue de 19.5 meq/kg de miel \pm 1.31, la humedad fue del 19.4%, la actividad diastásica fue de 12 en la escala de Goethe \pm 0.58, las cenizas fueron de 0.824 g/100g de miel \pm 0.07, y los azúcares reductores fueron de 66.8 g/100g de miel \pm 1.85. Además, el pH fue de 4.18 \pm 0.20, la densidad fue de 1.44 g/mL \pm 0.05, la densidad de sólidos totales fue del 80.6%, el índice de refracción fue de 1.4876 \pm 0.58, los grados Brix fueron de 79 \pm 0.58, los sólidos solubles fueron de 79, y los sólidos insolubles fueron de 0.058 g/100g \pm 0.019, todos dentro de los rangos establecidos.

Finalmente, el efecto antimicrobiano in vitro se determinó con la técnica de macro dilución, mostrando una CMI del 50% y una CMB del 80% para *Escherichia coli*, y una CMI del 60% y una CMB del 90% para *Candida albicans*.

2.2.3 Antecedente a nivel local

Vásquez C., Obtención de galleta integral con incorporación parcial de chía negra triturada (*salvia hispánica l.*), miel de abeja (*Apis mellifera L.*) y sacarosa. Tesis pregrado de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Industria alimentaria, Cusco 2016. (21)

como objetivo se centra en el desarrollo de una galleta integral incorporando parcialmente chía negra triturada (*Salvia hispánica L.*), (*Apis mellifera L.*) y azúcar. Se realizaron análisis fisicoquímicos de los ingredientes: la chía mostró un perfil de ácidos grasos con ácido palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico. La harina integral tenía un contenido de humedad y acidez específicos, mientras que el azúcar y la miel de abeja también fueron analizados en términos de humedad, acidez y otros componentes

Ensayos preliminares con diferentes proporciones de chía (9%, 6% Y 3%), miel de abeja (20% 12.5% y 5%) y azúcar (25%, 20% y 15%). utilizando un diseño experimental de superficie de respuesta para obtener 15 tratamientos aleatorizados. Se evaluó la dureza de las muestras, comparándolas con una galleta testigo y una galleta integral comercial. Además, se realizó una evaluación sensorial con 39 personas y un perfil de textura con 9 jueces entrenados, analizando parámetros de endurecimiento, masticabilidad, debilidad y compacto.

El mejor tratamiento fue la muestra 14, que contenía 3% de chía, 20% de miel y 20% de sacarosa. Esta muestra fue sometida a la evaluación de características fisicoquímicos (con 2,66% de humedad, 7,14% proteína, 2,8% fibra y 73,46% carbohidratos, ceniza 1,66%), microbiológicos y cromatográficos. En cuanto a los ácidos grasos, la galleta sin hornear y horneada presentó: ácido palmítico (37.12%), ácido esteárico (14.28%), ácido oleico (28.77%),

ácido linoleico (7.12%) y ácido linolénico (1.24%). Los carbohidratos, determinados por HPLC, fueron: sacarosa (64,18%), glucosa (19,41%) y fructosa (16,40%). Finalmente, se determina que la vida útil de la galleta integral, a una humedad relativa de 76.17% y temperatura constante,

2.3 Bases teóricas y científicas

2.3.1 Abeja

Las abejas (*Apis mellifera*) Pertenecen al grupo de los insectos, caracterizados por su sistema de respiración a través de tráqueas, la presencia de 3 pares de patas y un cuerpo dividido en 3 partes distintas: la cabeza, el tórax y el abdomen. Se clasifican en el orden Hymenoptera y experimentan una metamorfosis completa, presentando un aparato bucal lamedor y dos pares de alas membranosas. (22)

Tabla 1: Clasificación taxonómica de abeja (*Apis mellifera*)

| Clasificación de la abeja (<i>Apis mellifera</i>) | |
|--|-------------|
| Orden | Hymenoptera |
| Suborden | Apocrido |
| Superfamilia | Apoideo |
| Familia | Apidos |
| Subfamilia | Apinae |
| Género | Apis |
| Especie | Mellifera |

Fuente: Polaino Jiménez C. libro de Apicultura, 2006. (22)

2.3.1.1 Colmena

Una colmena es el hogar de una comunidad de abejas, y también se refiere a la comunidad misma que reside en ella. Una colmena puede contener hasta 80,000 abejas, que se dividen en tres grupos principales: (23)

Reina: La abeja reina es la única capaz de reproducirse y mantiene el equilibrio de la población de la colmena y su vida puede extenderse hasta los 5 años y desempeña un papel fundamental en mantener la cohesión y la identidad de la colonia, transmitiendo mensajes químicos. (23)

Zángano: Su único propósito es fecundar reinas vírgenes durante el vuelo nupcial, después se mueren. (23)

Obreras: Las abejas obreras son comprometidas con las labores de la colmena, con roles definidos instintivamente por su edad y factores ambientales como el clima y la floración. Aunque son hembras al igual que la reina, no están desarrolladas para la reproducción.

Su actividad laboral varía según su edad y el desarrollo glandular:

- Del 2do al 3er día, limpian los panales de la colmena y brindan calor a los huevos y larvas.
- Del 4to al 12avo día, preparan y cuidan la alimentación de las larvas, siendo conocidas como abejas nodrizas en este período. También producen jalea real.
- Del 13 al 18 día, producen cera y construyen los panales, y en caso necesario, crían una nueva reina construyendo la celda real, llamada "cacahuete" por su forma.
- Del 19 al 20 día, defienden la colonia apostándose en la entrada de la colmena para evitar la entrada de insectos extraños o abejas de otras colonias.
- Del 21 al 38-42 día, recolectan néctar, polen, agua y propóleos en el campo para cubrir las necesidades de la colonia.

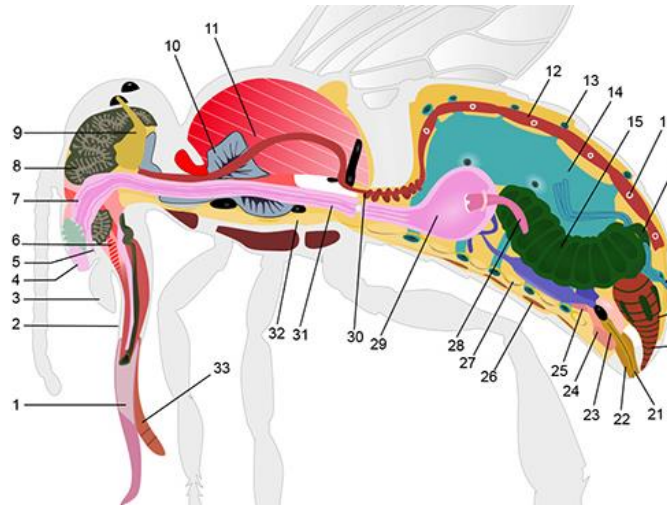
La esperanza de vida de la abeja obrera está determinada por la cantidad de trabajo que realiza. Durante la época de cosecha, debido al exceso de labores, su vida puede extenderse solo unas 6 semanas. Sin embargo, fuera de esta época, pueden vivir hasta 6 meses

- En su tercer día, las abejas limpian y proporcionan calor a las crías.
- En su duodécimo día, se encargan de nutrir a las larvas, siendo conocidas como abejas nodrizas durante este período.
- En su decimoctavo día, fabrican cera y construyen las celdas. Si es necesario, crían una nueva reina construyendo una celda grande, conocida como "cacahuete".
- En su vigésimo día, defienden la colmena posicionándose en la entrada para evitar la entrada de otros seres vivos.
- En su cuadragésimo segundo día, salen de la colmena a recolectar néctar y otros derivados, para satisfacer las necesidades de la colonia.

La longevidad de una abeja obrera está directamente relacionada con la cantidad de trabajo que realiza. Durante la temporada de cosecha, debido a la intensa actividad, su vida suele ser de aproximadamente seis semanas. No obstante, fuera de este período puede alargarse su vida hasta 6 meses. (24)

2.3.1.2 Anatomía

Figura 3: anatomía de la abeja (*Apis mellifera*)



Fuente: National Science Foundation. Anatomía de abeja (*Apis mellifera*). (25)

Tabla 2: anatomía de la abeja (*Apis mellifera*)

| | | |
|----|-------------------------------------|---|
| 1 | Probóscide | Sección de la boca con forma tubular empleada para succionar néctar |
| 3 | Mandíbula | Usan para digerir polen y manipular la cera en la reconstrucción de las celdas |
| 5 | Canal de alimentación | las abejas ingieren comida, que en su mayoría es líquida. |
| 6 | Faringe | Músculos encargados de mover el labio y extraer néctar de las flores. |
| 7 | Esófago | Los líquidos absorbidos se dirigen al estómago del abdomen. |
| 8 | Glándula hipofaríngea | sintetiza compuestos esenciales para la producción de jalea real, para alimentar a las larvas. |
| 9 | Cerebro | procesa información utilizada en la navegación, comunicación y memoria. |
| 10 | Glándula salival | sintetiza un líquido que disuelve el azúcar y compuestos que limpian el cuerpo, además de contribuir a la identidad química de la colonia |
| 25 | Glándula de veneno | Es la glándula encargada de producir el veneno, que puede dañar los tejidos al ser inyectado en el cuerpo. |
| 26 | Glándulas de la cera | Las abejas obreras comienzan a secretar cera aproximadamente 12 días después de su nacimiento |
| 28 | Proventrículo | Es una parte comprimida del estómago de la abeja que regula el flujo de néctar y sólidos |
| 29 | Estómago de la miel (buche melario) | Es un saco de almacenamiento que las abejas utilizan para transportar el néctar |

Fuente: National Science Foundation. Anatomía de abeja *Apis mellifera* 2023. (25)

2.3.1.3 Los productos del colmenar

Los mielatos: Son sustancias similares a la miel elaboradas por las abejas a partir de jugos azucarados obtenidos de nectarios extra florales en las plantas. Estos nectarios, diseñados, para la defensa a las partes tiernas de la planta contra los animales. Cuando las abejas elaboran este producto a partir de los jugos, se llama mielato (26)

Polen: Es una fuente vital de aminoácidos, lípidos, minerales y vitaminas para las abejas. Se origina en los estambres de las flores y consiste en pequeñas esporas que transportan las células reproductoras masculinas de las plantas con flores. La falta de polen durante la primavera puede ser una señal de mala salud para la colmena, ya que es necesario para la cría de abejas.(26)

El propóleo: Es una sustancia recolectada por las abejas de yemas y ramas jóvenes de árboles, así como de otros lugares como los pecíolos de las hojas. Se mezcla con cera y se utiliza para tapar grietas en la colmena. Tiene una textura pegajosa y presenta un color marrón o verde oscuro, acompañado de un olor resinoso distintivo y se funde con la temperatura.(26)

La cera: Es una combinación de sustancias grasas, ésteres y sales segregada por las glándulas ceríferas de las abejas jóvenes. Se funde a 62.5°C y puede disolverse en aguarrás, creando una especie de encáustico. La cera frecuentemente incluye propóleo y polen en su composición.(26)

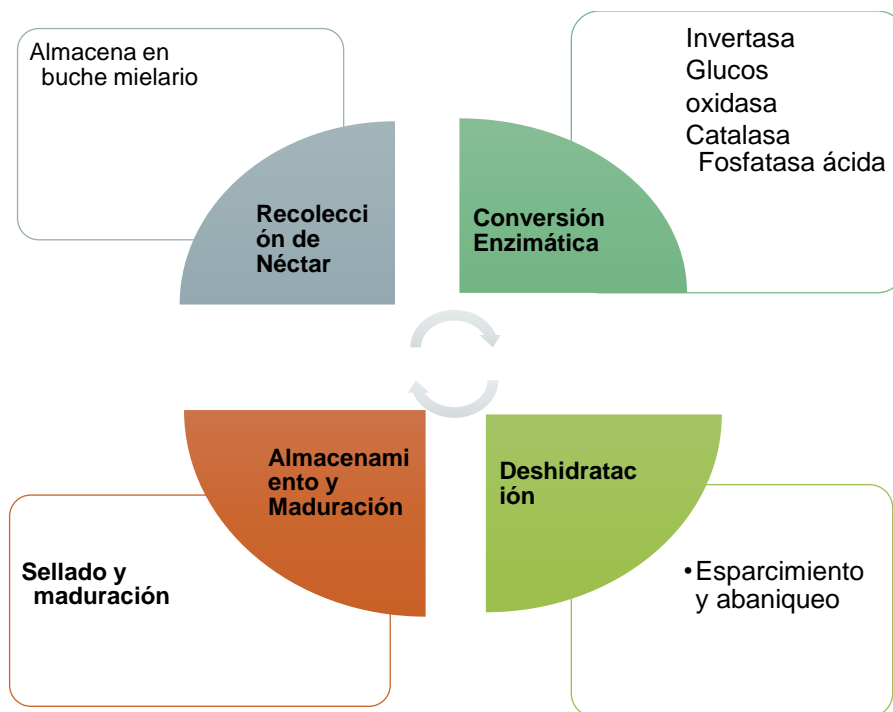
Jalea real: Es una mezcla de polen y miel producida por las abejas y transformado por sus enzimas de las abejas jóvenes, es utilizada para nutrir a las larvas menores de tres días y a la reina. (26) y por último la más importante la Miel.

2.3.2 Miel de abeja

2.3.2.1 Definición

La miel es un compuesto dulce se obtiene del néctar de las flores de diferentes plantas, y son recolectados y modificados adhiriéndose a sus sustancias especiales, luego se mezcla y deshidrata, se almacena y se coloca en celdas, mientras continúa el proceso de maduración. (2)

Figura 4: Proceso de la producción de la miel



Fuente: Elaboración propia de acuerdo con los autores. Quero M., Las abejas y la apicultura. (26)

2.3.2.2 Clasificación de la miel de néctar o de flores

FAO/WHO y INDECOPI clasifica según su origen:

- **Mieles monoflorales:** Estas mieles se caracterizan por tener un alto contenido de néctar de una sola especie o género vegetal, con un predominio de polen de esa especie o género superior al 45%. (27)
- **Mieles multiflorales:** En estas mieles, no hay un tipo de polen que predomine significativamente sobre los demás, lo que indica que el néctar proviene de diversas especies vegetales sin que ninguna sea dominante. (27)

Según el método de obtención:

- **Miel escurrida o decantada:** Se obtiene mediante la decantación de panales desoperculados que no contienen larvas.
- **Miel centrifugada:** Se extrae por centrifugación de panales desoperculados sin larvas.

- **Miel prensada:** Se obtiene al prensar los panales sin larvas, con o sin la aplicación de calor, hasta un máximo de 40°C.
- **Miel filtrada:** Es aquella miel que ha sido filtrada para eliminar toda materia orgánica o inorgánica, lo que resulta en una significativa reducción del contenido de polen. (27)

2.3.3 Componentes de la miel

La sustancia tiene una estructura complicada, concentrado mayormente por azúcares monosacáridos la fructosa (39,3%) y la glucosa (32,9%), en conjunto representan el 60% y 80% de azúcares reductores en la miel. Otro componente importante es la presencia de agua, cuyo porcentaje oscila entre un 13,4% y un 26,6%. (24) No obstante, en su estructura se encuentran presentes pequeñas cantidades de sustancias de gran interés que exhiben actividad biológica o valor nutricional, añadiendo un componente de calidad a la miel. Estas incluyen aminoácidos, minerales, enzimas, compuestos fenólicos, vitaminas y ácidos carboxílicos.(28)

AZUCARES

La mayor parte de los azúcares presentes en la miel no provienen directamente del néctar, sino que se generan durante el proceso de maduración y almacenamiento de la miel. Esto ocurre a través de diversos procesos enzimáticos y reacciones no enzimáticas que transforman el néctar en miel. Estos procesos son responsables de muchas de las características fisicoquímicas de la miel. Aunque los diferentes tipos de miel contienen los mismos azúcares, las cantidades varían según la flora, el clima y el origen geográfico. La fructosa generalmente influye sobre la glucosa. El contenido de sacarosa mínimo al 3%, mientras que los disacáridos reductores, como la maltosa, representan alrededor del 7%. Además, se han identificado otros azúcares como (isomaltosa, maltulosa, nigerosa, turcosa, kojibiosa, laminaribiosa y trehalosa). Se han determinado 22 azúcares complejos, incluyendo disacáridos, trisacáridos y polisacáridos.(29)

Diversas investigaciones han establecido una relación entre la composición de azúcares y el origen del néctar de las plantas.

Tabla 3: Componentes principales en la miel.

| Componentes | % |
|--------------------|-----------|
| Agua | 13,4-26,6 |
| Fructosa | 21,7-53,9 |
| Glucosa | 20,4-44,4 |
| Sacarosa | 0,0-7,6 |
| Otros | 0,1-16,0 |

Fuente: Ajobola A, Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. Journal of Nutrition y Metabolism. 2018; 1(12). (28)

VITAMINAS; Presenta en pequeñas cantidades

Tabla 4: Vitaminas presentes en la miel

| Vitaminas | Cantidad (mg/100g) |
|-------------------------------|---------------------------|
| Tiamina (B1) | 0,00-0,01 |
| Riboflavina (B2) | 0,01-0,02 |
| Niacina (B3) | 0,10-0,20 |
| Acido pantoténico (B5) | 0,02-0,11 |
| Piridoxina (B6) | 0,01- 0,32 |
| Ácido fólico (B9) | 0,002-0,01 |
| Ácido ascórbico (C) | 2,2-2,5 |
| Filoquinona (K1) | 0,025 |

Fuente: Ajobola A, Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. Journal of Nutrition y Metabolism. 2018; 1(12). (28)

MINERALES; Varía de acuerdo con el origen de la miel de abeja

Tabla 5: Minerales presentes en la miel

| Minerales | Cantidad (mg/100g) |
|----------------------|---------------------------|
| Sodio (Na) | 1,6-17 |
| Calcio (Ca) | 3-31 |
| Potasio (K) | 40-3500 |
| Magnesio (Mg) | 0,7-13 |

| | |
|-----------------------|------------|
| Fosforo (P) | 2-15 |
| Selenio (Se) | 0,002-0,01 |
| Cobre (Cu) | 0,02-0,6 |
| Hierro (Fe) | 0,03-4 |
| Manganeso (Mn) | 0,02-2 |
| Cromo (Cr) | 0,01-0,3 |
| Zinc (Zn) | 0,05-2 |

Fuente: Ajibola A, Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Journal of Nutrition y Metabolism*. 2018; 1(12). (28)

ENZIMAS

Las enzimas son componentes característicos de la miel y desempeñan un papel crucial en la mayoría de las reacciones químicas que ocurren en ella. Estas enzimas provienen de los jugos salivares y las secreciones hipofaríngeas de las abejas obreras cuando transfieren la miel de su buche a las celdillas. La miel tendrá un mayor contenido enzimático si se produce durante una floración lenta, ya que esto permite que muchas abejas lleven a cabo la trofalaxis (proceso mediante el cual las abejas se transfieren la miel). (29)

Todas las mieles frescas presentan actividad enzimática, que incluye enzimas como invertasa, glucosa oxidasa, amilasa (diastasa), catalasa, fosfatasa ácida, lactasa, proteasa y lipasa. Sin embargo, las tres enzimas principales son la diastasa, la invertasa y la glucosa oxidasa, las cuales se utilizan como indicadores de calidad debido a que su actividad disminuye con el calentamiento y tiempo de almacenamiento. (29)

Los índices de actividad diastásica en la miel varían considerablemente; las mieles frescas de diferentes orígenes florales muestran valores muy distintos, a pesar de que se esperaban valores similares.

La invertasa es una de las enzimas clave en la miel, ya que facilita la conversión de la sacarosa del néctar en fructosa y glucosa. Esta enzima se va degradando con el tiempo durante el almacenamiento de la miel a cualquier temperatura, por lo que también se utiliza como un marcador. (29) Por otro lado, la glucosa-oxidasa es una enzima secretada por las glándulas hipofaríngeas de las abejas, que convierte la glucosa en glucolactona, la cual luego se transforma en ácido glucónico (el principal ácido orgánico) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Este compuesto desempeña un papel protector para evitar la proliferación.(22)

Tabla 6 Principales enzimas presentes en la miel y su función

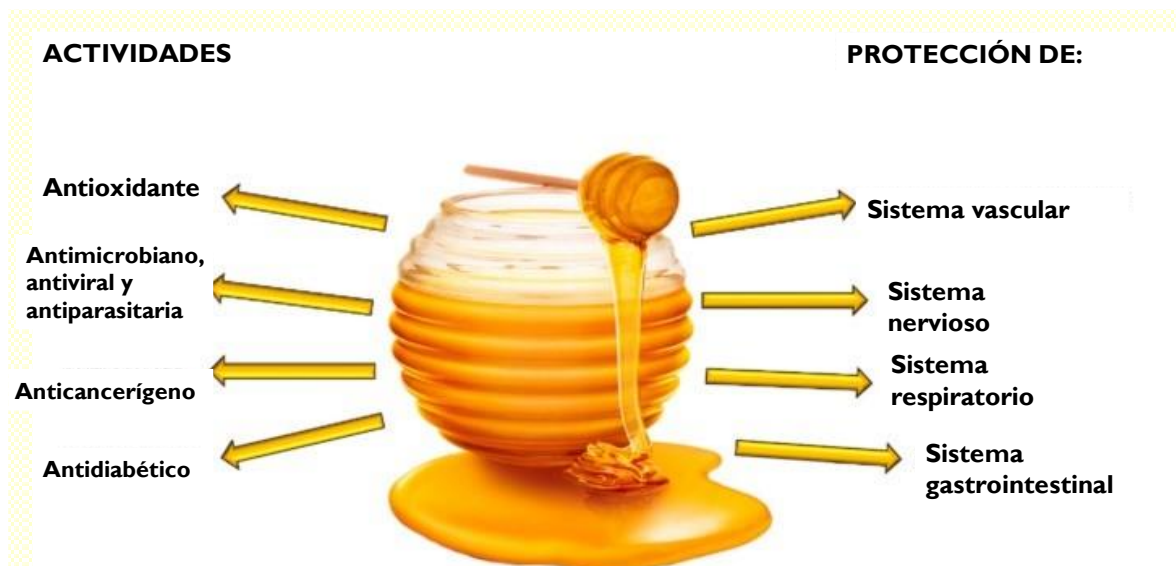
| ENZIMA | FUNCIÓN |
|------------------------|---|
| Invertasa | Convierte la sacarosa a glucosa y fructosa. |
| Diastasa | Hidroliza al almidón a dextrinas y/o azúcar. |
| Glucosa-oxidasa | Convierte la glucosa a glucolactona; ésta a su vez es transformada a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. |
| Catalasa | Convierte el peróxido de hidrógeno a agua y oxígeno. |
| Fosfatasa ácida | Convierte los fosfatos inorgánicos a fosfatos orgánicos. |

Fuente: ; Romero Q. Caracterización de mieles de abeja. 2017; 6(170).(29)

2.3.4 Propiedades de la miel como medicina

Desde tiempos antiguos, la miel ha sido usado, por sus propiedades medicinales. Se ha utilizado para promover la cicatrización de heridas, regenerar tejidos y tratar diversas afecciones como trastornos gastrointestinales y gingivitis. Su efecto terapéutico se debe a la presencia de antioxidantes, especialmente compuestos fenólicos como flavonoides y ácidos fenólicos. Estudios tanto in vitro como in vivo han demostrado que la miel posee actividades antimicrobianas, antivirales, antifúngicas, anticancerígenas y antidiabéticas. Además, se ha comprobado que protege los sistemas cardiovascular, nervioso, respiratorio y gastrointestinal. También se ha observado que la miel tiene un efecto protector en situaciones de estrés oxidativo, como en atletas que practican deportes intensos.(30)

Figura 5: Efecto beneficioso del consumo de miel.



Fuente: Cianciosi et al., Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: Journaly Molecules 2018;23(9). (30)

2.3.5 Radicales libres y Antioxidantes

2.3.5.1 Radicales libres.

Son moléculas que tienen uno o más electrones desapareados, lo que los hace altamente reactivos. Buscan estabilizarse robando electrones de otras moléculas, lo que puede iniciar una reacción en cadena de daño celular. Los radicales libres pueden formarse a partir de procesos metabólicos normales (factores internos) o por exposición a (factores externos); la RV, el humo del tabaco, contaminación de aire y presencia de agentes químicos como metales pesados. (31)

Tabla 7 Clasificación y abreviatura de los radicales libres.

| CLASIFICACIÓN | RADICAL LIBRE | ABREVIATURA |
|---|-----------------------------|---------------------------------|
| Especies reactivas del oxígeno (ROS) | Oxígeno singulete | • 1O ₂ |
| | Ión superóxido | • O ₂ •- |
| | Radical hidroxilo | • OH• |
| | Peróxido de hidrógeno | • H ₂ O ₂ |
| | Radicales alcoxis y peroxis | • RO• y ROO• |
| | Radical hidroperoxilos | • ROOH• ROOH• |
| Especies reactivas del nitrógeno | Óxido nítrico | • NO• NO• |
| | Dióxido nítrico | • NO ₂ • |
| | Peroxinitrito | • ONOO•- |
| Especies radicales del azufre | Radical tiilo | • RS• |
| Especies reactivas del cloro | Ácido hipocloroso | • HOCl |

Fuente: Palacios L., Determinación de la capacidad antioxidante de bayas y frutos del bosque Tesis. 2017; (5)47. (31)

2.3.5.2 Los radicales libres pueden contribuir al desarrollo de diversas enfermedades

Diversos procesos biológicos naturales en nuestro organismo, como la respiración, la digestión de alimentos, el metabolismo del alcohol y las drogas, y la conversión de grasas en energía, producen radicales libres, que son compuestos perjudiciales. Normalmente, estos radicales libres son eliminados por el sistema antioxidante natural del cuerpo. Sin embargo, si este sistema no funciona adecuadamente, los radicales libres pueden iniciar una reacción en cadena negativa que puede dañar las membranas celulares, inhibir la acción de enzimas vitales, interrumpir procesos celulares esenciales, impedir la división celular normal, dañar el ADN y bloquear la producción de energía. (7)

Tabla 8: Los radicales libres pueden desarrollar diversas enfermedades

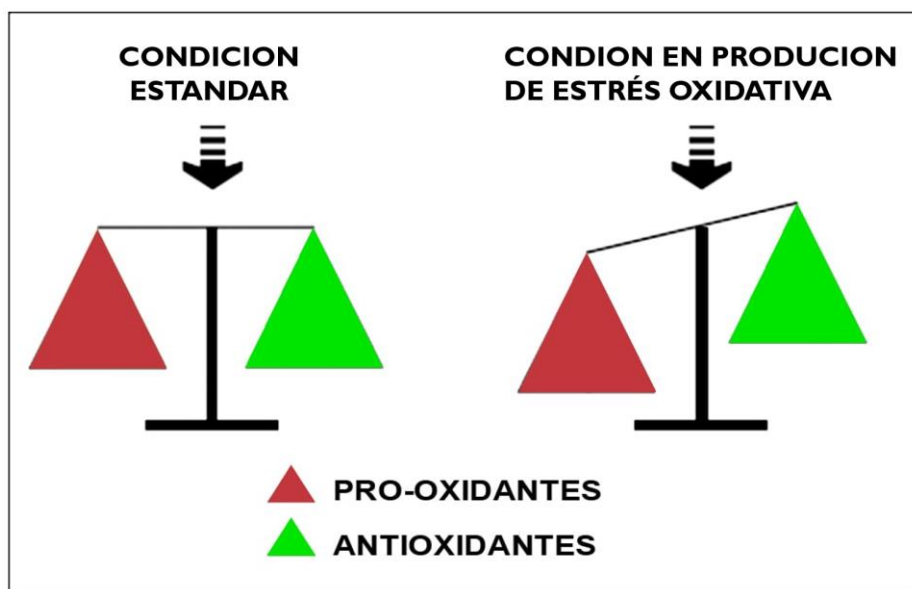
| Enfermedad | Descripción | Mecanismo de Acción de los Radicales Libres |
|--|--|--|
| Aterosclerosis | Endurecimiento y estrechamiento de las arterias | Oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) que lleva a la formación de placas |
| Enfermedades Cardiovasculares | Enfermedades del corazón y los vasos sanguíneos | Daño oxidativo al endotelio vascular y oxidación de LDL |
| Cáncer | Crecimiento descontrolado de células anormales | Daño al ADN que puede llevar a mutaciones y proliferación celular descontrolada |
| Diabetes Mellitus | Enfermedad metabólica caracterizada por niveles altos de glucosa en sangre | Estrés oxidativo que daña las células beta del páncreas y afecta la señalización de insulina |
| Enfermedades Neurodegenerativas | Enfermedades como Parkinson, Alzheimer y Esclerosis Múltiple | Daño oxidativo a neuronas y acumulación de proteínas anormales |
| Asma | Enfermedad inflamatoria crónica de las vías respiratorias | Estrés oxidativo que contribuye a la inflamación y daño de las vías respiratorias |
| Artritis Reumatoide | Enfermedad autoinmune que causa inflamación de las articulaciones | Daño oxidativo a las células sinoviales y cartílago articular |

Fuente: Sharifi-Rad M. et al, Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. (7),(32)

2.3.5.3 Estrés Oxidativo

El estrés oxidativo ocurre cuando existe un desajuste entre la generación de radicales libres y la capacidad del organismo para eliminarlos mediante antioxidantes. Este desequilibrio puede provocar daños en las células, proteínas y el ADN, este desequilibrio puede causar y está asociado con el envejecimiento y diversas enfermedades como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas. Los antioxidantes, presentes en alimentos como frutas y verduras, ayudan a contrarrestar los radicales libres. (7)

Figura 6 Balance de antioxidante y prooxidante



Fuente: Elaboración propia

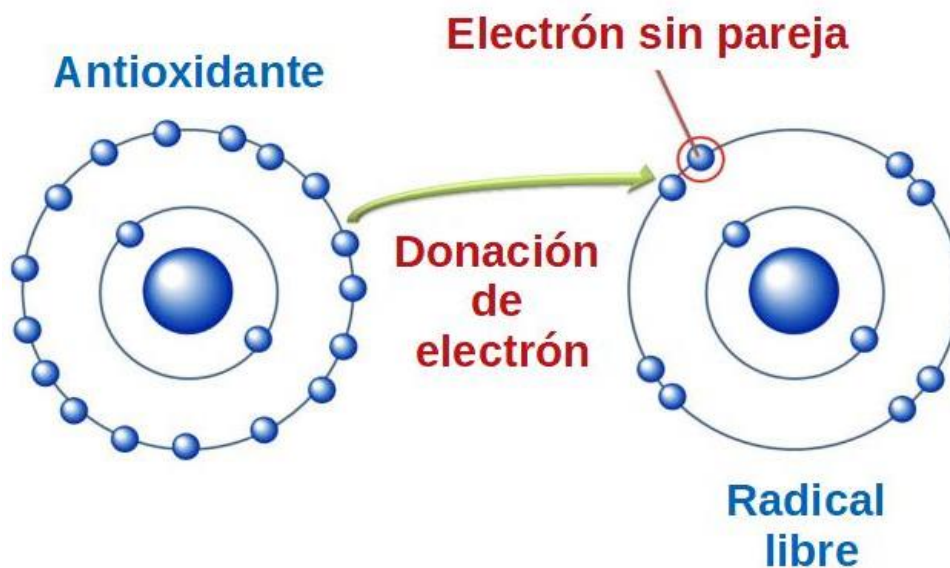
2.3.5.4 Antioxidantes

Es un elemento que puede prevenir, aplazar la oxidación de otros compuestos o neutralizar la actividad oxidante de los radicales libres al ceder electrones, que son posteriormente captados por dichos radicales. La oxidación es una reacción química que puede producir radicales libres, los cuales pueden iniciar reacciones en cadena que dañan las células. (31)

Funciones de los Antioxidantes

- **Neutralización de Radicales Libres:** Las moléculas de antioxidantes ceden sus electrones a los radicales libres, estabilizándolos y previniendo que causen daño a las células
- **Protección Celular:** Contribuyen a proteger las células del estrés oxidativo, que son causante de diversas enfermedades crónicas como el cáncer y enfermedades cardiovasculares
- **Apoyo al Sistema Inmunológico:** Los antioxidantes tienen la capacidad de reforzar el sistema inmunológico, apoyando al organismo en la lucha contra la infección. (7)

Figura 7: Interacción entre un radical libre y un antioxidante



Fuente: Palacios L. Determinación de la capacidad antioxidante de bayas y frutos del bosque. Tesis. 2017; 5(47). (31)

A. Antioxidantes endógenos enzimáticos

Tabla 9: Antioxidantes endógenos

| ANTIOXIDANTE | ACCIÓN ANTIOXIDANTE | COFACTOR |
|-----------------------------------|---|------------------------|
| Superóxido dismutasa (SOD) | disminuye radicales superóxidos. | Cobre, sodio, magnesio |
| Catalasa (CAT) | Elimina peróxido de hidrogeno. | Hierro |
| Glutación Peroxidasa (GHX) | Elimina el H ₂ O ₂ y convierte en agua, neutraliza al OH ceden un electrón y recicla antioxidante la vitamina C | Selenio |

Fuente: Delgado L. et al. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo 2010 (33)

B. Antioxidantes exógenos naturales

Tabla 10: antioxidantes exógenos

| ANTIOXIDANTES | ACCIÓN ANTIOXIDANTE | EFECTOS SECUNDARIOS |
|---|---|---|
| Vit E (tocoferol) | Conserva la integridad de la membrana celular, preserva la vitamina A contra la degradación y ralentiza el proceso de envejecimiento celular. | (NRN) No Reportado Ninguno |
| Vit C (ácido ascórbico) | Es un agente que previene la oxidación de lípidos, regenera la vitamina E y proporciona protección frente a la piel. | El consumo excesivo de esta sustancia puede provocar la formación de cálculos en los riñones |
| B-Caroteno (provitamina A) | Resguarda al ADN, interrumpe el deterioro de tejidos | ingesta excesiva, produce descamación de la piel, caída del cabello, dificultad para respirar y náuseas |
| Flavonoides | Quela metales. | NRN |
| Oligoelementos Selenio (Se), Zinc (Zn), Manganeso (Mn), Cobre (Cu) | Son componentes clave en el núcleo activo de las enzimas antioxidantes, contribuyendo al buen funcionamiento del hígado, el corazón y el sistema reproductivo, además de actuar como protector. | El Se, es altamente tóxico; en grandes cantidades, puede provocar la caída del cabello, cambios en las uñas y los dientes, así como náuseas, vómitos y aliento con olor a leche agria |

Fuente: Delgado L. et al. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo (33)

2.3.5.5 Actividad prooxidante de los polifenoles

Los flavonoides también tienen propiedades prooxidantes potencialmente relevantes y actúan como defensa contra antimicrobianos. Los factores que influyen en la actividad prooxidante:

- Concentración del flavonoide (Quercetina >100 µM suele mostrar efectos prooxidantes)
- pH del medio (pH alcalino favorece la auto-oxidación) pH ácido tiende a estabilizar los flavonoides
- Presencia de metales de transición

- Estructura química específica del flavonoide (**Quercetina**: Puede generar H_2O_2 en presencia de Cu^{2+} (cobre (Cu^{2+} a Cu^{1+}), **Catequinas**: Actividad prooxidante en altas concentraciones, **Kaempferol**: Puede inducir daño oxidativo al ADN). (34)

Mecanismo de acción prooxidante:

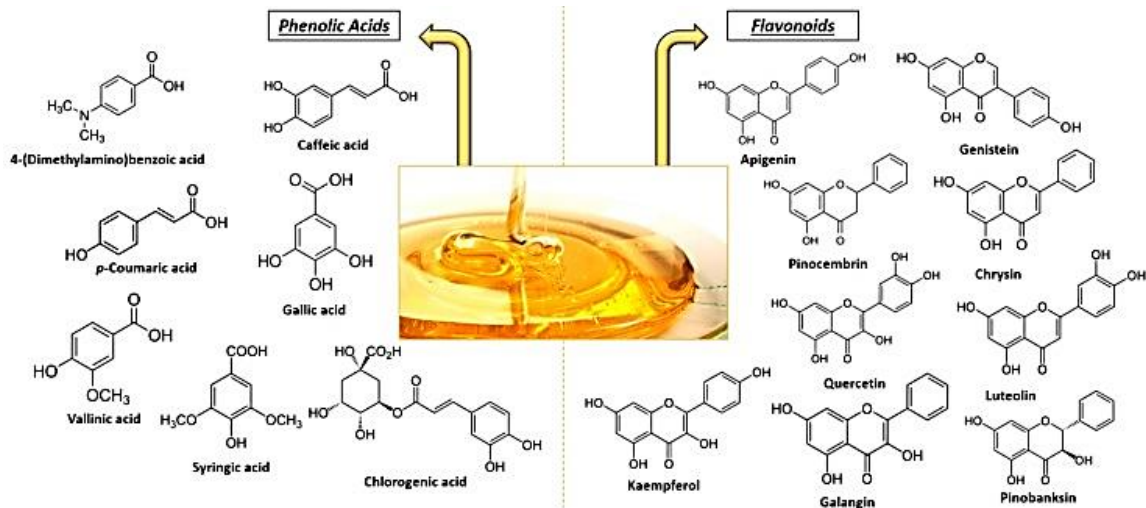
- Autooxidación: Pueden afectar negativamente componentes del sistema de defensa antioxidante del cuerpo, como el glutatión.
- Reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} (Reacción de Fenton), Puede generar H_2O_2 en presencia de Cu^{2+} (cobre, Cu^{2+} a Cu^{1+})
- Producción de especies reactivas de oxígeno (ROS)

Importancia del balance: En general, a dosis moderadas, los flavonoides y ácidos fenólicos son beneficiosos y actúan como antioxidantes. Sin embargo, a dosis muy altas, pueden tener efectos prooxidantes y potencialmente dañinos. (34)

2.3.6 Polifenoles

Los **polifenoles** son compuestos químicos que se hallan en los vegetales y se caracterizan por tener múltiples grupos fenol por molécula. Estos compuestos son conocidos por sus beneficios para la salud (antioxidantes), especialmente en la prevención de enfermedades. Hasta la fecha, son reconocidos más de 8,000 tipos de polifenoles en diferentes especies de plantas. Los polifenoles se clasifican en no flavonoides, flavonoides y ácidos fenólicos. (33)

Figura 8: Clases de polifenoles y estructuras químicas de algunos de sus principales compuestos



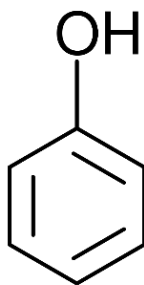
Fuente: Sharifi-Rad M. et al, Lifestyle, Oxidative Stress and Antioxidants. Journaly Frontiers in Physiology 2023. (7)

2.3.6.1 Ácidos Fenólicos

Su función principal radica en estimular el crecimiento vegetal o servir como mecanismo defensivo contra patógenos. (35) Los ácidos fenólicos se dividen en dos categorías: los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos. Es relevante destacar que la presencia de Múltiples grupos hidroxilo y una mayor distancia entre el grupo carbonilo y el anillo aromático incrementan la capacidad antioxidante. (36)

Los compuestos fenólicos químicamente están formados por uno o más grupos hidroxilo, carboxilo, fenoles y un anillo aromático que contiene radicales activos.

Figura 9: Estructura química del ácido fenólico



Fuente: Grootveld et al. Aromatic hydroxylation as a potential measure of hydroxyl-radical formation in vivo. Libro 1986; (499-504) (37)

Tabla 11 Clasificación de compuestos fenólicos en diferentes mieles

| CLASIFICACIÓN | SUBCLASIFICACION | |
|-----------------------------|------------------|-------------------------|
| Ácidos Fenólicos | Ácidos | ácido p-hidroxibenzoico |
| | Hidroxibenzoico | ácido protocatecuico |
| | | Ácido gálico |
| | | ácido vanílico |
| | | ácido siríngico |
| | | Ácido clorogénico |
| | | Ácido cinámico |
| | Ácidos | Ácido cafeico |

| | | |
|--|------------------|-------------------|
| | Hidroxicinámicos | ácido p-cumárico. |
| | | ácido ferúlico |
| | | ácido sinápico |
| | | Ácido elágico |

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con los autores Martínez A. y Belén A. et al. (38)(39)

2.3.6.2 Flavonoides

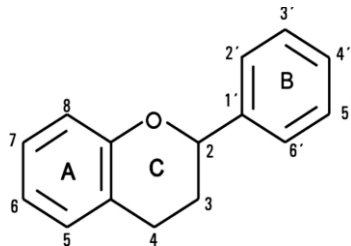
Los flavonoides se encuentran en las plantas, y son responsables de mucho de los colores brillantes de las flores, verduras y frutas. (36)

Los flavonoides tienen como función principal proteger al cuerpo contra daños potenciales causados por la contaminación ambiental, los rayos ultravioletas, los olores como el oxígeno y los productos químicos en los alimentos. Aunque no son considerados nutrientes esenciales, estos compuestos desempeñan un papel significativo en el cuerpo humano, especialmente por su propiedad antioxidante. (40)

Las variaciones en la disposición de sus grupos hidroxilo y carbonilo permiten la creación de diversos patrones estructurales, lo que permite clasificar estos compuestos. (41)

Están compuestos por tres anillos de carbono: dos anillos fenólicos (A y B) y un anillo heterocíclico piránico (anillo C).

Figura 10: Núcleo base de un flavonoide



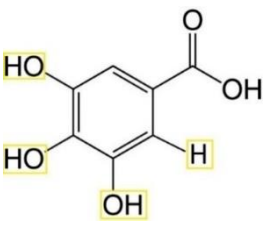
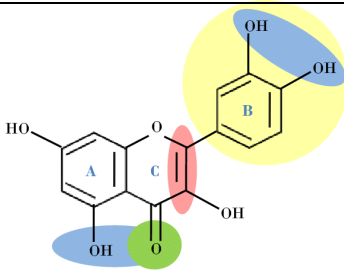
Fuente: Procházková D et al. Fitoterapia. 201; 82(4) (41)

Tabla 12 Clasificación de compuestos flavonoides encontrados en las mieles

| Clasificación | Subclasificación |
|----------------|------------------|
| Flavonas | Apigenina |
| | Crisina |
| | Rutina |
| Flavonoles | Quercetina |
| | Kaempferol |
| | Miricetina |
| | Galangina |
| | Isoramnetina |
| Flavanonas | Sakuranetina |
| Flavanos | Catequina |
| Antocianidinas | Cianidina |
| Isoflavonas | Genisteína |

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con los autores Martínez A. y Belén A. et al. (38)(39)

Tabla 13: Estructura química y biodisponibilidad de los ácidos fenólicos y flavonoides

| | Ácidos Fenólicos | Flavonoides |
|----------------------------|--|---|
| Estructura Química |  |  |
| Grupos funcionales: | <p>Un anillo aromático (Fenoles)</p> <p>Al menos un grupo hidroxilo (-OH)</p> <p>Un grupo carboxílico (-COOH)</p> | <p>Hidroxilos (-OH)</p> <p>Éter (-O-)</p> <p>Carbonilo (C=O)</p> <p>Carboxilo (-COOH)</p> <p>Anillos aromáticos (2)</p> |
| Biodisponibilidad: | <p>Rápida absorción (Principalmente en intestino delgado)</p> <p>Vida media: 2-3 horas</p> <p>- La presencia de otros nutrientes puede influir en su absorción.</p> | <p>Absorción más lenta y compleja (principalmente en colon)</p> <p>Vida media: Variable (6-28 horas)</p> <p>- La biodisponibilidad puede ser mejorada por la presencia de otros compuestos como lípidos.</p> |

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con los autores Cartaya O. et al,(42),(36),(43)(44)

Propiedades de los antioxidantes para estabilizarse

Los antioxidantes están diseñados químicamente para ser estables

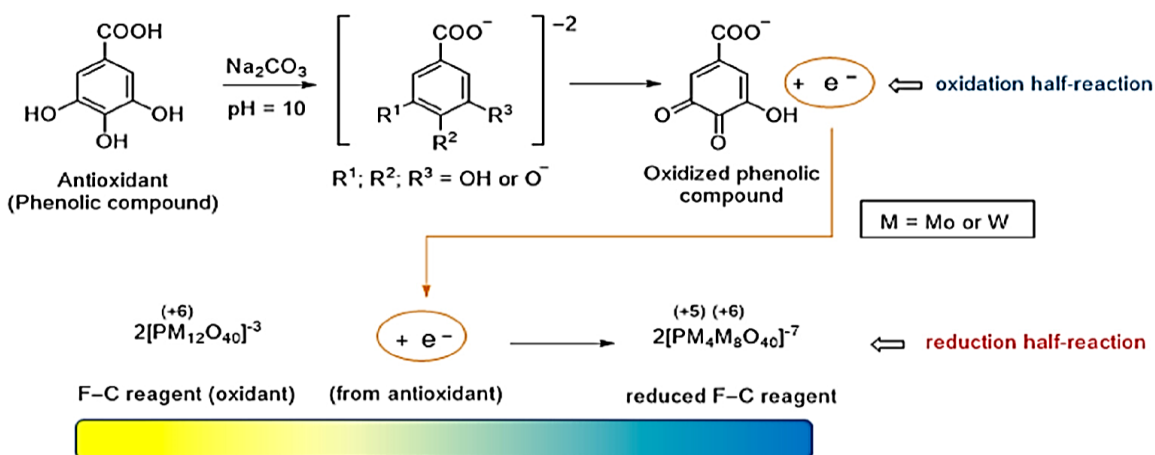
- **Resonancia molecular:** Tras donar un electrón, el antioxidante se convierte en un radical relativamente estable porque la carga se distribuye de manera uniforme a través de su estructura mediante resonancia.
- **Capacidad de regenerarse:** Algunos antioxidantes pueden ser regenerados por otros antioxidantes en el sistema biológico.
- **Ciclos antioxidantes:** Los antioxidantes como la vitamina C, vitamina E, glutatión y la coenzima Q10 participan en ciclos en los que unos regeneran a otros.

2.3.7 Determinación y cuantificación de sustancias antioxidantes

2.2.7.1. Contenido de polifenoles totales

Reacción redox en el ensayo de Folin-Ciocalteu. El método FC se fundamenta en una reacción de entrega de electrones, donde la sustancia antioxidante funciona como donante de electrones, mientras que el reactivo FC actúa como agente oxidante.

Figura 11: Reacción redox general en el ensayo de Folin-Ciocalteu.



Fuente: Perez et al. The Chemistry Behind the Folin-Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food 2023. (45)

Ácidos fenólicos

La capacidad de los ácidos fenólicos para eliminar los radicales libres esta relacionado con la cantidad y lugar de los grupos hidroxilo y metoxi en sus moléculas. (45)

2.2.7.2. Contenido de flavonoides

Se utilizará el método de Zhishen et al., se produce una reacción de los flavonoides con cloruro de aluminio (AlCl_3) y acetato de sodio (NaOAc) en medio alcalino para formar complejos coloreados estables. La intensidad del color formado depende de la cantidad total de flavonoides presentes en las muestras. (3)

Se añade una solución de nitrito de sodio (NaNO_2) y se deja reaccionar durante 5 minutos. Esta etapa permite la diazotización de los flavonoides, luego, se agrega cloruro de aluminio (AlCl_3) al 10%, que reacciona con los flavonoides formando un complejo coloreado y finalmente, se añade hidróxido de sodio (NaOH) 1 M para desarrollar el color del complejo.

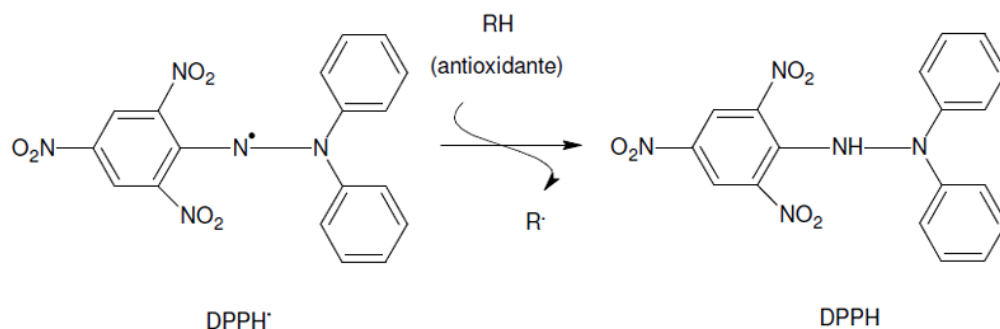
El complejo resultante de la reacción entre los flavonoides y el cloruro de aluminio en presencia de nitrito de sodio y hidróxido de sodio es de color amarillo. La intensidad del color amarillo es proporcional a la cantidad de flavonoides presentes en la muestra, lo que permite su cuantificación mediante espectrofotometría y la ABS del complejo coloreado se mide a una longitud de onda 510 nm utilizando un espectrofotómetro. (46)

2.2.7.1. Ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

La actividad antioxidante se determinará mediante el método modificado por Brand-Williams (1995). El proceso de evaluar la capacidad antioxidante mediante el uso de DPPH implica la reorganización de un electrón no emparejado, que normalmente le da un color violeta con una banda de absorción alrededor de 520 nm en una solución de metanol.

- Al interactuar con un antioxidante, el DPPH experimenta una reducción, lo que resulta en la pérdida de su color y, por ende, de su capacidad de absorción.
- Así, la evaluación de la capacidad antioxidante de las muestras se llevará a cabo mediante la medición del cambio de color en una solución de metanol.
- Es relevante señalar que el radical DPPH es uno de los pocos radicales orgánicos nitrogenados estables y está disponible comercialmente. (3)

Figura 12 Mecanismo acción por el cual el DPPH• acepta un hidrogeno de una molécula antioxidante



Fuente: Muños J. et al. Determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante 2014 (3)

Las mediciones se llevaron a cabo por triplicado. El porcentaje de DPPH inhibido (% DPPH) se calculó con la ecuación:

$$\% \text{ DPPH inhibido} = \frac{(A \text{ control} - A \text{ muestra}) \times 100}{A \text{ control}}$$

Donde:

- A Control es la absorbancia del control
- A muestra es la absorbancia de la muestra.

Los valores de CI50 se obtuvieron a partir de gráficos que relacionan el porcentaje de inhibición con las concentraciones de los tratamientos. El CI50 representa la concentración de un compuesto necesario para reducir la concentración inicial del DPPH al 50 %, con una ABS DE 517 nm.(47)

2.3.8 NORMAS RELATIVAS A LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA MIEL

La miel reservada para el consumo humano tiene que ser exenta de microorganismos, mohos y sustancias inorgánicas u orgánicas ajenas a su composición, Asimismo, libre de sustancias tóxicas originadas por microorganismos o plantas en niveles que puedan suponer un riesgo para la salud.(48)

Tabla 14 criterio microbiológico según la MINSA para la miel de abeja

| VI.4 Miel, jalea real y similares. | | | | | | |
|---|-----------|-------|---|---|--------------|--------|
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10^3 | 10^4 |
| Anaerobios sulfito reductores | 5 | 3 | 5 | 2 | 10^2 | 10^3 |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10^2 |

Fuente: Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano -Ministerio de Salud (MINSA) - Perú (2008) (49)

2.3.9 NORMAS RELATIVAS A LA CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA MIEL

Cada nación establece sus propias normativas sobre los criterios que determinan si una miel cumple con los estándares mínimos para representar la calidad de los productos.

Tabla 15 Parámetros de calidad de la miel de según la norma técnica peruana 209.168.

| a) Contenido de humedad | |
|---|-----------------|
| Mieles no indicadas a continuación | 21% como máximo |
| Miel de brezo (calluna) | 23% como máximo |
| Miel de trébol (trifolium) | 23% como máximo |
| b) Contenido de azúcar reductor (glucosa y fructosa) | |
| Mieles no indicadas a continuación | 65% como mínimo |
| Miel de mielada | 60% como mínimo |
| c) Contenido aparente de sacarosa | |
| Mieles no indicadas a continuación | 5% como máximo |
| Miel de mielada, mezclas de miel de mielada y miel de flores. | 10% como máximo |

| | |
|--|--|
| d) Acidez | 40 miliequivalentes de ácido por 1000 gramos como máximo |
| e) Sustancias minerales (cenizas) | |
| Mieles no indicadas a continuación | 0,6% como máximo |
| Miel de mielada o una mezcla de miel de mielada y miel de flores | 1,0% como máximo |
| f) Contenido de hidroximetilfurfural | 40 mg/kg como máximo |
| g) Actividad de la diastasa | 3 índice de diastasa (ID) como mínimo |
| h) Contenido de sólidos insolubles en agua (agua destilada) | |
| Mieles distintas de la miel prensada | 0,1% como máximo |
| Miel prensada | 0,5% como máximo |

Fuente: INDECOPI 1999. Norma técnica peruana 209.2008.

2.3.10 Metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

Miel de eucalipto: la especie (*Eucalyptus globulus*)

Composición química: Contiene compuestos como el 1,8-cineol (eucaliptol), α -pineno y limoneno, que son responsables de su actividad antibacteriana. Estos compuestos actúan dañando la membrana celular de las bacterias, lo que lleva a la pérdida de integridad celular y, finalmente, a la muerte de la bacteria.(50)

El 1,8-cineol (eucaliptol). Este compuesto ha sido utilizado en la medicina tradicional debido a sus múltiples propiedades biológicas, incluyendo efectos antiinflamatorios, antioxidantes, antimicrobianos, broncodilatadores, analgésicos y proapoptóticos.

Propiedades y Usos:

- Enfermedades Respiratorias: Utilizado en el tratamiento de la bronquitis, sinusitis, asma y EPOC.
- Enfermedades Neurodegenerativas: Potencial en el manejo del Alzheimer y el dolor neuropático.
- Cáncer: Investigado por sus efectos proapoptóticos en células cancerosas.

Farmacocinética:

Absorción y Metabolismo: Se absorbe en el intestino delgado y se metaboliza en el hígado por las enzimas CYP3A4/5. Sus metabolitos se excretan por la orina.

Distribución: Puede alcanzar el sistema bronquial y ser exhalado, extendiendo sus efectos beneficiosos a todo el sistema respiratorio.

Propiedades antimicrobianas de amplio espectro del 1,8-cineol

Disrupción de la membrana celular: Los compuestos volátiles de eucalipto pueden alterar la integridad de la membrana celular bacteriana, causando la pérdida de componentes intracelulares esenciales.

Inhibición de la síntesis de proteínas: Lo que imposibilita el desarrollo y la reproducción de las bacterias.

Efecto antiinflamatorio: Además de sus propiedades antimicrobianas, puede reducir la inflamación en las vías respiratorias, lo que ayuda a aliviar los síntomas de infecciones respiratorias.(51)

Miel multifloral

Composición química de las plantas: La miel multifloral proviene del néctar de diversas flores, cada una con sus propias propiedades antimicrobianas. Estas propiedades se transfieren a la miel, enriqueciendo su capacidad antibacteriana.

Sinergia de metabolitos: De las plantas, los (flavonoides, alcaloides y terpenoides), tienen efectos antimicrobianos. Cuando estos compuestos se combinan en la miel, su acción se potencia, creando un efecto sinérgico que mejora la actividad antibacteriana.

2.3.11 *Streptococcus pneumoniae*

2.3.11.1 Definición

Es una bacteria (Gram positiva), generalmente anaerobia facultativa, inmóvil, de forma ovalada y con una cápsula que la rodea. Suele agruparse en cadenas de dos (diplococos o más). (52)

Tabla 16: Taxonomía de *Streptococcus pneumoniae*

| Clasificación científica | |
|--------------------------|--|
| Dominio: | Bacteria |
| Clase: | Bacilli |
| Orden: | Lactobacillales |
| Familia: | Streptococcaceae |
| Género: | Streptococcus |
| Especie: | <i>Streptococcus pneumoniae</i> |

Fuente: López J. Microbiología 2019

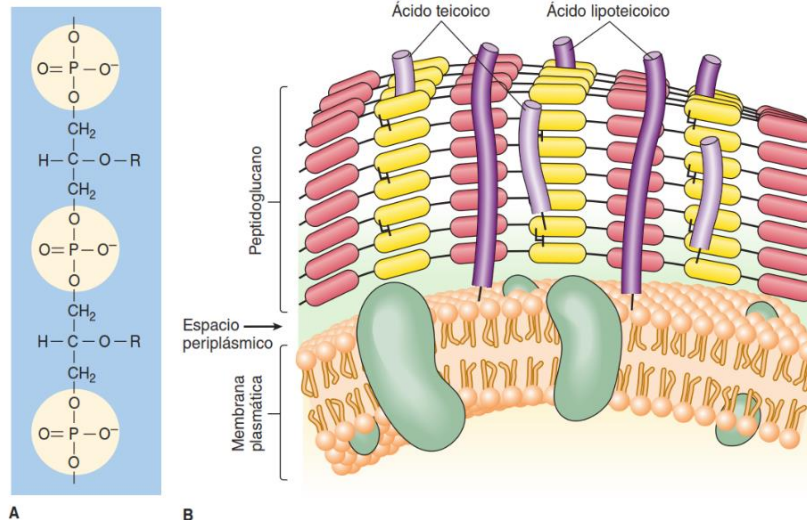
2.3.11.2 Características

Morfología, es una bacteria de forma ovalada y de 1,2-1,8 µm de longitud, es alfa-hemolítica, lo que significa que produce una hemólisis parcial en agar sangre, creando una zona verdosa alrededor de las colonias y es encapsulada, lo que le permite evadir la fagocitosis y aumentar su virulencia. La pared de una bacteria grampositiva está compuesta por una capa de peptidoglicanos, separada de la membrana plasmática por el espacio periplásmico. (52)

Grampositivo: Se tiñe de color púrpura en la tinción de Gram.

Cultivo: Crece en medios enriquecidos como agar sangre, donde produce hemólisis alfa (hemólisis parcial, que da una apariencia verdosa alrededor de las colonias).

Figura 13: Esquema de la pared bacteriana gram-positiva A: Estructura del ácido teicoico constituido por fosfato, glicerol B: Ácidos teicoico y lipoteicoico de la pared celular.



Fuente: Mietzner T. Microbiología médica, 2016. (53)

2.3.11.3 Mecanismo de propagación y transmisión

La transmisión se produce principalmente a través de las gotitas expulsadas por personas afectadas al hablar, estornudar y toser. Sin embargo, el contagio entre personas es común, la mayoría no presentan síntomas y de la bacteria se hospeda en la mucosa nasofaríngea. (54)

2.3.11.4 Infección

La infección neumocócica puede manifestarse de diversas maneras, desde infecciones leves del tracto respiratorio superior, como otitis media y sinusitis, hasta enfermedades graves como la neumonía, meningitis y septicemia. Es más común en niños menores de 2 años, en adultos mayores de 60 años y en personas con enfermedades crónicas como problemas renales, cardíacos. (52)

2.3.11.5 Tratamiento farmacológico

Antibióticos

Pacientes Ambulatorios: El tratamiento recomendado es Amoxicilina a dosis altas (1 g vía oral cada 8 horas) durante 7 a 10 días, para cubrir neumococos resistentes a la penicilina (CIM <4).

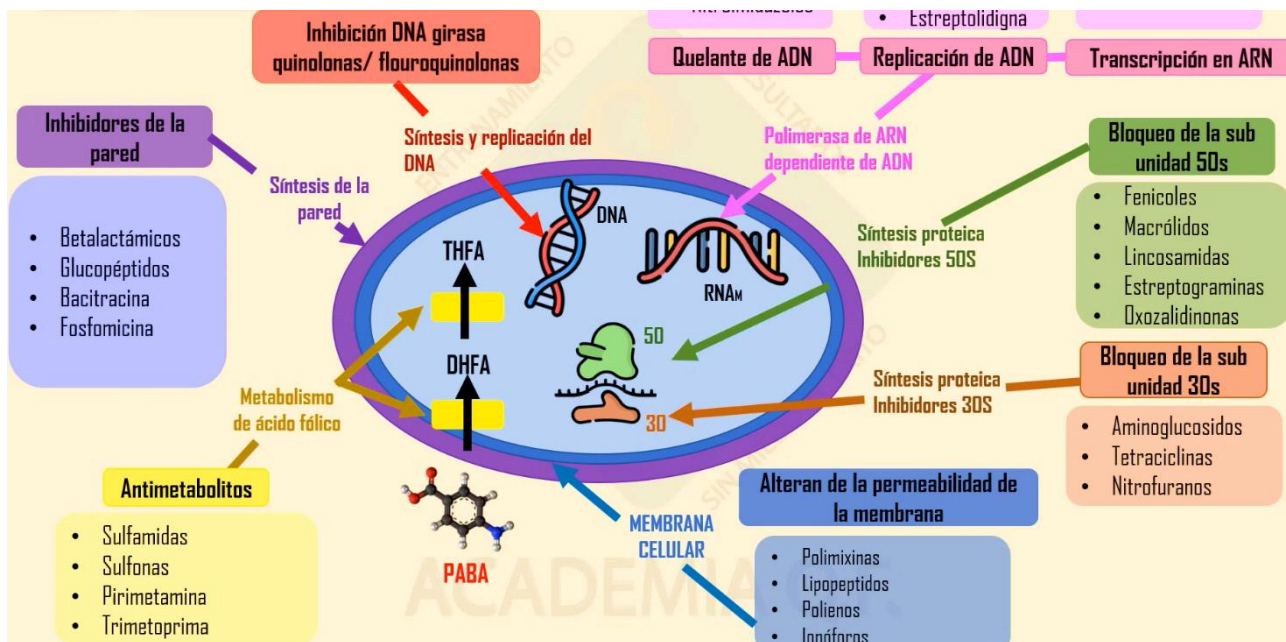
Tabla 17: Tratamiento farmacológico

| ANTIBIÓTICO | MECANISMO DE ACCIÓN | TIPO |
|--|--|--------------------|
| Primera línea (Penicilinas) Amoxicilina | Inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana. La amoxicilina se une a las proteínas de unión a penicilina (PBP) en las bacterias, lo que impide la formación de peptidoglicano, un componente esencial de la pared celular bacteriana. Esto conduce a la lisis y muerte de la bacteria. | Bactericida |
| Cefalosporinas (Ceftriaxona, Cefotaxima): en casos de resistencia | 2da 3ra generación Inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana al unirse a las PBPs. | Bactericida |
| (Vancomicina) infecciones severas | Inhibición de la Síntesis de la Pared Celular impide la polimerización y el entrecruzamiento de las cadenas de peptidoglicano, lo que debilita la pared celular y provoca la lisis de la bacteria. Interferencia | Bactericida |

| | | |
|--|---|---|
| | en la Síntesis de ARN. Daño a la Membrana Celular. aumentando su permeabilidad y provocando la muerte celular | |
| Macrólidos (Azitromicina, Claritromicina): Fluoroquinolonas (levofloxacino y moxifloxacino) | Inhibe la síntesis de proteínas bacterianas al unirse a la subunidad 50S del ribosoma, lo que impide la elongación de la cadena polipeptídica. Alternativa en pacientes alérgicos a la penicilina | Bacteriostático (potencialmente bactericida en altas concentraciones). |

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con los autores MINSA (55)

Figura 14: Mecanismo de acción en general



Fuente: Elaboración propia de acuerdo con los autores. Goodman et al. (56)

Vacunas

Vacuna Polisacárido Neumocócico (PPSV23):

- Composición polisacárica que comprende 23 serotipos capsulares de Streptococcus pneumoniae
- Cobertura epidemiológica del 85-90% de cepas causantes de infecciones invasivas
- Mecanismo inmunogénico basado en respuesta T-independiente

- Indicada en poblaciones de alto riesgo: pediatría avanzada y geriatría
- Eficacia demostrada contra cepas con fenotipos de resistencia antibiótica

Vacuna Antineumocócica Conjugada (PCV13):

- Aspectos biotecnológicos e inmunológicos:
- Construcción molecular basada en 13 polisacáridos capsulares
- Conjugación con CRM197, proteína transportadora derivada de toxina diftérica modificada genéticamente
- Potenciación de respuesta inmune mediante mecanismo T-dependiente
- Óptima para población infantil: intervalo de 6 semanas a 5 años
- Inducción de memoria inmunológica mediante presentación antigénica proteica.(57)

2.3.12 Características de las áreas de estudio

La miel de abeja (*Apis mellifera*) multifloral se recolecta de los apiarios de las localidades centro poblado de **Huarán** Calca y la miel de eucalipto del centro poblado de **Chacán** Anta en la región Cusco

Área de Recolección de la miel multifloral de centro poblado de Huarán provincia, Calca región Cusco

Ubicación: el poblado de Huaran pertenece política y administrativamente al distrito de Calca provincia Calca y región Cusco, ubicado a 58 kilómetros de la ciudad de Cusco, para información **ANEXO**

Ubigeo: 080401

Altitud: 2256 m s. n. m. Bosque seco montano bajo subtropical (27)

Clima

Al igual que en el resto de los Andes peruanos, el ciclo de lluvias se distingue por dos estaciones claramente diferenciadas a lo largo del año: **la temporada lluviosa**, que va de octubre a abril, y la **temporada seca**, que se extiende de mayo a septiembre, con una variación notable en la precipitación total anual.

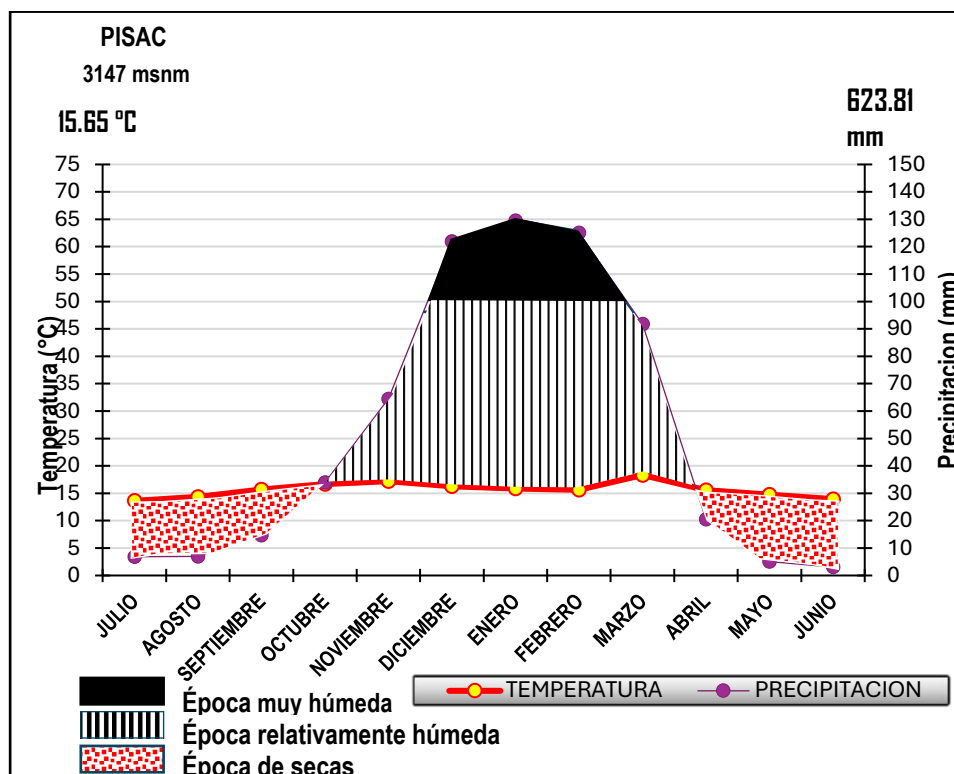
La precipitación total anual en la zona oscila entre 580 y 650 mm. Los meses de mayor precipitación son diciembre, enero y febrero, con valores mensuales superiores a 100 mm. En contraste, los meses de menor precipitación son mayo y junio, cuando se registran valores por debajo de 5 mm, llegando en algunos casos a 0 mm.

Tabla 18 Datos meteorológicos de temperatura y precipitación resumidos por meses

| MES | TEMPERATURA MEDIA (°C) | PRECIPITACION (mm) |
|--------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Enero | 15.86 | 129.53 |
| Febrero | 15.61 | 125.10 |
| Marzo | 18.33 | 91.75 |
| Abril | 15.57 | 20.54 |
| Mayo | 14.75 | 5.09 |
| Junio | 13.93 | 3.05 |
| Julio | 13.62 | 6.83 |
| Agosto | 14.35 | 6.91 |
| Setiembre | 15.66 | 14.72 |
| Octubre | 16.66 | 33.97 |
| Noviembre | 17.21 | 64.44 |
| Diciembre | 16.25 | 121.88 |
| Promedio | 15.65 | |
| Total anual | | 623.81 |

Fuente: Yuca R., Análisis polínico de las mieles producidas en dos localidades del Valle Sagrado de los Incas (Cusco, Perú) 2015.(27)

Figura 15 cromatografía de la estación meteorológica



Fuente: Yuca R., Análisis polínico de las mieles producidas en dos localidades del Valle Sagrado de los Incas (Cusco, Perú).(27)

La zona presenta en general un clima templado-cálido-subhúmedo a árido, las precipitaciones pluviales se inician en el mes de octubre y termina en abril (estación lluviosa), siendo con mayor intensidad en los meses, enero, febrero y marzo. (25) Temperatura promedio 17°C -a frío moderado temperatura promedio 13 ° C. las temperaturas menores ocurren entre los meses de mayo y julio y las mayores se registran en, octubre noviembre y diciembre.(27)

La presencia de los vientos (templado-seco) es notoria en las primeras horas de la tarde en dirección norte estando ausentes por las mañanas.

ECOSISTEMAS DE LA LOCALIDAD DE HUARÁN.

1. Zona agrícola

Incluye las áreas destinadas a cultivos transitorios, es decir, aquellas que requieren ser sembrados nuevamente después de la cosecha para continuar produciendo (con un ciclo vegetativo corto, que varía de unos pocos meses hasta 2 años), y los cultivos permanentes,

que tienen un ciclo vegetativo superior a dos años y permiten varias cosechas sin necesidad de replantar. (58)

En Huarán, la agricultura es una actividad fundamental. Además de las fresas y cucurbitáceas, se cultivan otros productos agrícolas importantes como Maíz, Papa, Quinua, y árboles frutales como: Manzanas, duraznos, saucos y otros.

2. Matorral montano (valle interandino cálidos)

El ecosistema andino, que se extiende de manera amplia por todo el país, incluye tres tipos de matorrales (matorral montano, matorral de puna seca y matorral andino), con una altitudinal que va desde los 1500 hasta los 4500 metros sobre el nivel del mar. Se distingue por la presencia de vegetación leñosa y arbustiva, cuya composición y estructura varían. La composición florística de este tipo de ecosistema incluye una diversidad de especies adaptadas a las condiciones de altitud y clima de la región, algunas de las especies que comprende son: (58)

Tabla 19: Flora representativa del ecosistema Matorral de Huarán

| Familia | Especie |
|----------------|---------------------------------------|
| ASTERACEAE | <i>Baccharis latifolia</i> |
| BERBERIDACEAE | <i>Berberis boliviana</i> |
| ESCALLONIACEAE | <i>Escallonia resinosa</i> |
| ROSACEAE | <i>Hesperomeles lanuginosa</i> |
| ROSACEAE | <i>Kageneckia lanceolata</i> |
| ANACARDIACEAE | <i>Schinus molle</i> |
| ELAEOCARPACEAE | <i>Vallea stipularis</i> |
| VERBENACEAE | <i>Duranta armata</i> |
| BETULACEAE | <i>Alnus acuminata</i> |
| FABACEAE | <i>Caesalpinia spinosa</i> |
| FABACEAE | <i>Spartium junceum</i> |
| SOLANACEAE | <i>Dunalia obovata</i> |
| POLYGONACEAE | <i>Polygonum hydropiperoides</i> |
| BIGNONIACEAE | <i>Tecoma stans var. Sambucifolia</i> |

Fuente: Elaboración propia en base a datos de Campo(58)

2.3.12.1 La miel multifloral

Las abejas fabrican miel utilizando el néctar de flores de distintas especies vegetales, en proporciones que pueden ser muy diferentes. (27)

Periodo de floración

Las características de la miel están determinadas por el entorno que rodea a la colmena, particularmente por la flora presente y las condiciones climáticas. Las cosechas de néctar dependen en primer término de la flora apícola del lugar, de las estaciones del año, de la temperatura, de la humedad, de la altitud de terreno y de la luminosidad. (59)

Las formaciones vegetales o pisos ecológicos de la localidad se caracterizan por la presencia de especies tales como. **ANEXO 10**

Fotografía N° 1: Vegetación y flores de la colmena de CC.PP. Huarán



Fuente: Imagen propia

Área de Recolección de miel de eucalipto CC. PP. Chacán distrito y provincia Anta

Ubicación: El Centro Poblado pertenece a la provincia de Anta región Cusco, ubicado a tan solo 40 minutos de la ciudad del Cusco.

Ubigeo: 080301

Altitud: 3537 m s. n. m.

ECOSISTEMAS DE LA LOCALIDAD DE POBLADO DE CHACÁN.

Clima

La estación seca se caracteriza por el estrés hídrico que se presenta desde mayo a setiembre

1. Zona agrícola

Comprende las áreas dedicadas a cultivos. Pueden ser cultivos transitorios, es decir, aquellos que después de la cosecha deben volver a sembrar para seguir produciendo (ciclo vegetativo de pocos meses hasta 2 años). (58)

En **Chacán** la agricultura es una actividad fundamental, como: maíz, papa, trigo, etc.

2.3.13 Origen de la miel

Es relevante señalar que las propiedades farmacológicas de la miel dependen de su origen floral y su procedencia. (3)

2.3.13.1 La miel de eucalipto (*Eucalyptus globulus*)

La miel es elaborada por las abejas a partir del néctar de las flores de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), que recogen exclusivamente de este árbol. Es una miel muy fragante, con un sabor característico a madera con ligeras notas ácidas. (60)

Fotografía N° 2: Flores de eucalipto



Fuente: imagen propia

A. Fenología

La floración inicia en junio y concluye en diciembre. Las flores son numerosas, blancas, individuales, con pedicelos muy cortos, axilares, poseen abundantes estambres y son altamente melíferas. La duración de la floración está influenciada por el clima. (61)

B. Néctar

La calidad del néctar están afectadas por diversos factores, área geográfica, el clima y las características físicas y químicas del suelo, la temperatura, los estaciones del año periodo de lluvia y sequía. (62)

Comprende las áreas dedicadas a las plantaciones de eucalipto (*Eucalyptus globulus*)

Fotografía N° 3: Colmenas de las abejas



Fuente: Imagen propia

Fotografía N° 4: Vegetación del CC.PP. Chacán



Fuente: Imagen propia

2.4 Marco conceptual

Presión antibiótica selectiva: es la "presión selectiva" son bacterias que adquirieron resistencia y tienen más prevalencia de sobrevivir y reproducirse aumentando el porcentaje de microorganismos. (63)

Antibiótico: El término se define "contra la vida"; en este caso, contra los microbios. (64)

La resistencia: Las bacterias bloquean al antídoto ya que presenta un escudo o protección que le permite adecuar su especie para persistir. (63)

Era pre-antibiótica: Se define que en generaciones sucederán y los contagios comunes como una neumonía, una infección dérmica o una tuberculosis sigan en el enfermo un proceso de evolución natural y volverán a ser en un mecanismo de control ecológico de nuestra especie. (57)

La Organización Panamericana de la Salud (OPS): La OPS es un organismo internacional dedicado a mejorar la salud pública en los países americanos. Actúa como la oficina regional de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el continente americano, trabajando en estrecha colaboración con los gobiernos y las comunidades para abordar diversos desafíos sanitarios. (65)

CDC MINSA: El Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades tiene la responsabilidad de supervisar la salud pública y diseñar planes de acción para prevenir y controlar enfermedades. (66)

Virulencia: La virulencia se refiere a la capacidad patógena de un microorganismo, como bacterias, virus o hongos, para causar daño en el huésped. Se mide mediante tasas de mortalidad y su habilidad para invadir y dañar los tejidos del huésped. (57)

CLSI (El Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio; Clinical and Laboratory Standards Institute): Es una organización internacional clave en el mundo de la salud, dedicada a crear y mantener estándares uniformes para prácticas de laboratorio y procedimientos clínicos.

PROOXIDANTE: Son agentes que genera especies reactivas de oxígeno (ERO) capaces de provocar daño celular durante los procesos metabólicos. (43)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Material de estudio (obtención de miel)

Se adquirió las mieles multifloral de origen *Apis mellifera*, de los apicultores de Huarán-Calca y la miel de eucalipto de **Chacán** Anta región Cusco.

3.1.2 Material Biológico

Cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619

3.1.3 Material laboratorio

- Tubos de ensayo con tapa rosca 5 mL, 10 mL y 20 mL
- Vaso precipitado 50 mL, 100 mL
- Matraz 100, 250 y 500 mL
- Pipetas 5 mL y 10 mL
- Micropipetas graduadas 10 μ L, 100 μ L y 1000 μ L
- Fiolas 10 mL, 50 mL, 100 mL
- Probetas 50 y 100 mL
- Embudo de vidrio.
- Placas petri.
- Asa de siembra
- Mechero Bunsen
- Pissetas
- Baguetas.
- Gradillas.
- Papel filtro
- Rollo de Papel de aluminio
- Algodón
- Gasa estéril
- Papel Kraft

3.1.4 Equipos de laboratorio

- Balanza analítica de sensibilidad 0.0001 g. OHAUS.
- Baño María.
- Incubadora.
- Autoclave.
- Centrifuga.
- Agitador magnético.
- Vortex
- Espectrofotómetro UV
- Refrigeradora
- Cocina eléctrica
- Equipo de HPLC
- Destilador de agua

3.1.5 Medios de cultivo

- Caldo Mueller Hinton con cationes y seriado
- Caldo HBI (infusión cerebro, corazón)
- Agar sangre con 5%

3.1.6 Medios de cultivo para control microbiológico

- Caldo agua peptona
- Agar plata
- Agar Sabouraud
- Agar TSC
- Agar Mc Conkey

3.1.7 Reactivos

- Agua destilada
- Trolox
- Metanol 80%
- Solución de sulfito ácido de sodio (NaHSO_3)
- Reactivo de Folin-Ciocalteu
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Acido gálico

- Quercetina
- Cloruro de aluminio ($AlCl_3$) y acetato de sodio (NaOAc)
- Reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

3.1.8 Otros materiales

- Jeringas descartables de 10mL, 20 mL.
- Mandil descartable
- Guantes estériles
- Gorro
- Barbijos
- Mascarilla N95
- Plumones de tinta indeleble
- Cinta de esterilización autoclave
- Papel crepado para esterilización
- Papel indicador de pH
- Ligas
- Detergente
- Lejía
- Franelas

3.1.9 Ubicación, tiempo y espacio de estudio

- Laboratorio de Ciencias Clínicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional San Antonio de Cusco
- Laboratorio de Farmacología y Productos Naturales de la Universidad Nacional San Antonio de Cusco

3.2 METODOLOGÍA

Diseño de investigación: Cuasiexperimental, Cuasiexperimental porque, se manipulan la variable y no tiene un control absoluto de las variables. Además, no hay una asignación aleatoria de muestras

Enfoque: Cuantitativo, El estudio se basa en la medición y análisis de datos numéricos

Secuencia temporal: transversal se recolecta la información en un solo punto en el tiempo

3.2.1 Diseño de la investigación

3.2.2.1. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos

Diseño de un solo grupo con postest. (Procedimiento y el flujo de trabajo según la norma técnica peruana 209)

| GRUPO | MEDICIÓN DE LA PRUEBA |
|-------|-----------------------|
| G_1 | O_1 |
| G_2 | O_2 |
| . | . |
| G_x | O_x |

Donde:

G1-Gx: Evaluación de Humedad, ceniza, Densidad, acidez total, azúcares reductores y Hidroximetilfurfural

O1-Ox : Lecturas correspondientes. (Resultados comparados y validados según NTP 209)

3.2.2.2. Determinación del contenido de polifenoles totales Mediante el método descrito por Pérez et al., con el reactivo Folin Ciocalteu.

Diseño de un solo grupo con postest

| GRUPO | MEDICIÓN DE LA PRUEBA |
|-------|-----------------------|
| G_1 | O_1 |
| G_2 | O_2 |
| . | . |
| G_x | O_x |

Donde:

G1-Gx: Tubos de ensayo con las muestras de miel y con el reactivo Follin Ciocalteu 10%

O1-Ox : Lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a 765 nm.

3.2.2.3. Determinación del contenido de flavonoides totales Mediante el método desarrollado por Zhishen et al. Con el reactivo cloruro de aluminio (AlCl₃)

Diseño de un solo grupo con posttest

| GRUPO | MEDICIÓN DE LA PRUEBA |
|-------|-----------------------|
| G_1 | O_1 |
| G_2 | O_2 |
| . | . |
| G_x | O_x |

Donde:

G1-Gx: Tubos de ensayo con las muestras de miel y con los reactivos cloruro de aluminio (AlCl₃) y acetato de sodio (NaOAc)

O1-Ox : Lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a 420 nm.

3.2.2.4. Determinación de la actividad antioxidante. Método Colorímetro por DPPH, modificado por Brad Williams et al.

Diseño de un solo grupo con posttest

| GRUPO | MEDICIÓN DE LA PRUEBA |
|-------|-----------------------|
| G_1 | O_1 |
| G_2 | O_2 |
| . | . |
| G_X | O_X |

Donde:

G1-G4 : Tubos de ensayo con el reactivo correspondiente

O1-O4 : Lectura en el espectrofotómetro UV

3.2.2.5. Determinación de la actividad antibacteriana de miel de abeja frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 mediante el método de dilución en caldo

Diseño con posttest con grupo de control

| GRUPO | TRATAMIENTO EXPERIMENTAL | MEDICIÓN DE LA PRUEBA |
|-----------|--------------------------|-----------------------|
| G_1 | X_1 | O_1 |
| G_2 | X_2 | O_2 |
| G_3 | X_3 | O_3 |
| . | . | . |
| . | . | . |
| . | . | . |
| G_X | X_X | O_X |
| G_{X+1} | X_{X+1} | O_{X+1} |
| G_{X+2} | (-) | O_{X+2} |

Donde:

G1, G2, G3,G_{X+1}, G_{X+2}: Cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 en caldo

X1, X2, X3, ..., X_{X+1}: Miel de abeja a diferentes concentraciones crecientes en g/mL. Por triplicado

O1, O2, O3, ..., O_X, O_{X+1}, O_{X+2}: lectura de absorbancia por espectrofotométrica UV a 600 nm.

(-) : Grupo de control negativo y positivo

3.2.2.6. Determinación de la actividad antibacteriana de miel de abeja frente a e *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 método dilución en

| GRUPO | TRATAMIENTO EXPERIMENTAL | MEDICIÓN DE LA PRUEBA |
|------------------------|--------------------------|------------------------|
| G₁ | X₁ | O₁ |
| G₂ | X₂ | O₂ |
| G₃ | X₃ | O₃ |
| . | . | . |
| . | . | . |
| . | . | . |
| G_X | X_X | O_X |
| G_{X+1} | X_{X+1} | O_{X+1} |
| G_{X+2} | (-) | O_{X+2} |

Donde:

G1, G2, G3, ...G_{X+1}, G_{X+2}: Cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 en agar sangre

X1, X2, X3, ...X_X: Miel de abeja a diferentes concentraciones crecientes en g/mL. Por triplicado

O1, O2, O3, O_X, O_{X+1}, O_{X+2}: Presencia de colonias

(-) : Grupo de control positivo

3.3 Identificación y operacionalización de variables

3.3.1 Variable independiente

La miel multifloral y de eucalipto son densos y viscosos se usó disolvente metanol 80%

Definición conceptual: La miel es un producto elaborado por las abejas a partir de sustancias azucaradas, como el néctar y otros derivados de diversas plantas que se encuentran en la colmena. Su composición principal incluye glucosa y fructosa como principales azúcares, siendo el agua su tercer componente más abundante.(12)

Definición operacional:

- Naturaleza: Cuantitativa
- Tipo de medición: Directa
- Escala: Razón
- Instrumento de medición: Balanza analítica
- Procedimiento: Se pesó la cantidad necesaria la miel puro
- Expresión final: mg/mL

3.3.2 Variable dependiente

3.3.2.1. Estudio fisicoquímico

Definición conceptual: Expresan resultados cuantificables que permiten estimar la calidad de las mieles, y su origen.

Definición operacional:

- Naturaleza: Cuantitativa
- Tipo de medición: Indirecta
- Escala de medición: Razón
- Instrumento de medición: con equipos y cálculos de fórmulas
- Procedimiento: se realizó mediciones de cada parámetro en el laboratorio
- Expresión final: En porcentaje

3.3.2.2. Contenido de polifenoles totales de miel de abeja multifloral y de eucalipto de origen *Apis mellifera* Lin

Definición conceptual: Los polifenoles son compuestos bioactivos presentes en alimentos vegetales, y su análisis es relevante debido a su contribución al mantenimiento de la salud

humana. En el caso de la miel de abeja, se ha estudiado su contenido en polifenoles totales utilizando el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. (3)

Definición operacional:

- Naturaleza: Cuantitativa
- Tipo de medición: Indirecta
- Escala de medición: Razón
- Instrumento de medición: Espectrofotómetro UV - Visible
- Procedimiento: El tratamiento del extracto de metanol con el reactivo de Folin Ciocalteu produjo un color azulado y se incubo durante media hora. cuando se leyeron las absorbancias correspondientes en un espectrofotómetro UV a 625nm.
- Expresión final: Equivalente mg de ácido gálico/ 100ug

3.3.2.3. Contenido de flavonoides totales de miel de abeja multifloral y de eucalipto

Definición conceptual: Los flavonoides son compuestos bioactivos presentes en alimentos vegetales, y su contenido en la miel de abeja es relevante debido a su potencial beneficio para la salud humana. En un estudio realizado en mieles peruanas de diferentes fuentes florales, se determinó el contenido de flavonoides totales utilizando el método propuesto por Zhishen et al. Este método se basa en la reacción de los flavonoides con un reactivo específico, produciendo una coloración detectable. Los resultados varían según el origen floral y procedencia de la miel (3)

Definición operacional:

- Naturaleza: cuantitativa
- Tipo de medición: indirecta
- Escala de medición: razón
- Instrumento de medición: Espectrofotómetro UV- Visible
- Procedimiento: Los tubos de ensayo que contenían extracto se trataron con solución de tricloruro de aluminio al 10% y se incubaron a temperatura ambiente, dando como resultado un color amarillo, la absorbancia se midió con un espectrofotómetro a 20 nm
- Expresión final: Equivalente mg de quercetina deshidratada /100 g de muestra

3.3.2.4. Actividad antioxidante

Capacidad de captura de radicales libres (DPPH)

Definición conceptual: La capacidad de captura de radicales libres (DPPH) es una medida utilizada para evaluar la actividad antioxidante de diferentes sustancias, incluida la miel de abeja. El método DPPH se basa en la reacción del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) con compuestos antioxidantes presentes en la miel.(3)

Definición operacional:

- Naturaleza: Cuantitativa
- Tipo de medición: indirecta
- Escala de medición: Razón
- Instrumento de medición: Espectrofotómetro UV
- Procedimiento se determinó en espectrofotómetro según la disminución en la formación de radicales libres detectada por las medidas de absorbancia.
- Expresión final: porcentaje de inhibición de radicales libres (mg/ml)
- Indicadores: inhibición de radical libre DPPH de la muestra

3.3.2.5. Actividad antibacteriana in vitro de la miel de abeja multifloral y de eucalipto

Definición conceptual: La actividad antibacteriana in vitro de la miel de abeja multifloral y de eucalipto se refiere a su capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias en condiciones de laboratorio.

Definición operacional:

- Naturaleza: cuantitativa
- Tipo de medición: Directa
- Escala de medición: Razón
- Instrumento de medición: Espectrofotómetro UV- visible
- Procedimiento: Lectura de turbidez
- Expresión final: Concentración mínima inhibitoria (g/ml)

3.3.2.6. Actividad antibacteriana in vitro de la miel de abeja multiflora y de eucalipto

Definición conceptual: La actividad antibacteriana in vitro de la miel de abeja multiflora y de eucalipto se refiere a su capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias en condiciones de laboratorio. Se han realizado estudios para evaluar esta actividad utilizando diferentes métodos, como la técnica de conteo de colonias y la determinación de la concentración mínima bactericida (CMB).(67)

Definición operacional:

- Naturaleza: cuantitativa
- Tipo de medición: Directa
- Escala de medición: Razón
- Instrumento de medición: vista
- Procedimiento: Observación y presencia de colonias
- Expresión final: Concentración mínima bactericida (g/ml)

3.3.3 Operacionalización de las variables

Tabla 20: Variable independiente

| | Naturaleza | Medición | Escala | instrumento | Expresión final de la variable |
|-----------------------------------|-------------------|-----------------|---------------|--------------------|---------------------------------------|
| Concentración de la miel de abeja | Cuantitativa | Directa | Razón | Balanza | mg |

Tabla 21: Variable dependiente

| | Indicadores | Naturaleza | Medición | Escala | Instrumento | Expresión final de la variable |
|---------------------------|------------------------------------|-------------------|-----------------|---------------|----------------------|--|
| Parámetros fisicoquímicos | Densidad | Cuantitativa | Indirecta | Razón | Hidrómetro | g/cm ³ |
| | Ceniza | Cuantitativa | Indirecta | Razón | horno de mufla | % |
| | Humedad | Cuantitativa | Indirecta | Razón | Refractómetro ABBE | % |
| | pH | Cuantitativa | Indirecta | Razón | pH-metro | pH |
| | Acidez total | Cuantitativa | Indirecta | Razón | | meq/kg |
| | Glucosa | Cuantitativa | Indirecta | Razón | Espectrofotómetro | % |
| | Fructosa | Cuantitativa | Indirecta | Razón | Espectrofotómetro | % |
| | Hidroximetilfurfural | Cuantitativa | Indirecta | Razón | Espectrofotómetro | mg/kg |
| Actividad antioxidante | Polifenoles totales | Cuantitativa | Indirecta | Razón | Espectrofotómetro UV | mg equivalentes de ácido gálico por 100g |
| | Flavonoides totales | Cuantitativa | Indirecta | Razón | Espectrofotómetro UV | mg equivalentes de quercetina por 100g |
| | Método de captura del radical DPPH | Cuantitativa | Indirecta | Razón | Espectrofotómetro UV | IC50 (µM/100g), (mg/100g) equivalente a Trolox y % de inhibición |

Tabla 22: Variable dependiente (Continuación)

| | Indicadores | Naturaleza | Medición | Escala | Instrumento | Expresión final de la variable |
|--|-------------------------|-------------------|-----------------|---------------|----------------------|---------------------------------------|
| Actividad antibacteriana contra <i>S. pneumoniae</i> | CMI (Dilución en caldo) | Cuantitativa | Indirecta | Razón | Espectrofotómetro UV | mg/mL |
| | CMB | Cuantitativa | Directa | Razón | Conteo de colonias | mg/mL |

Fuente: Elaboración propia

3.4 Criterios de exclusión e inclusión

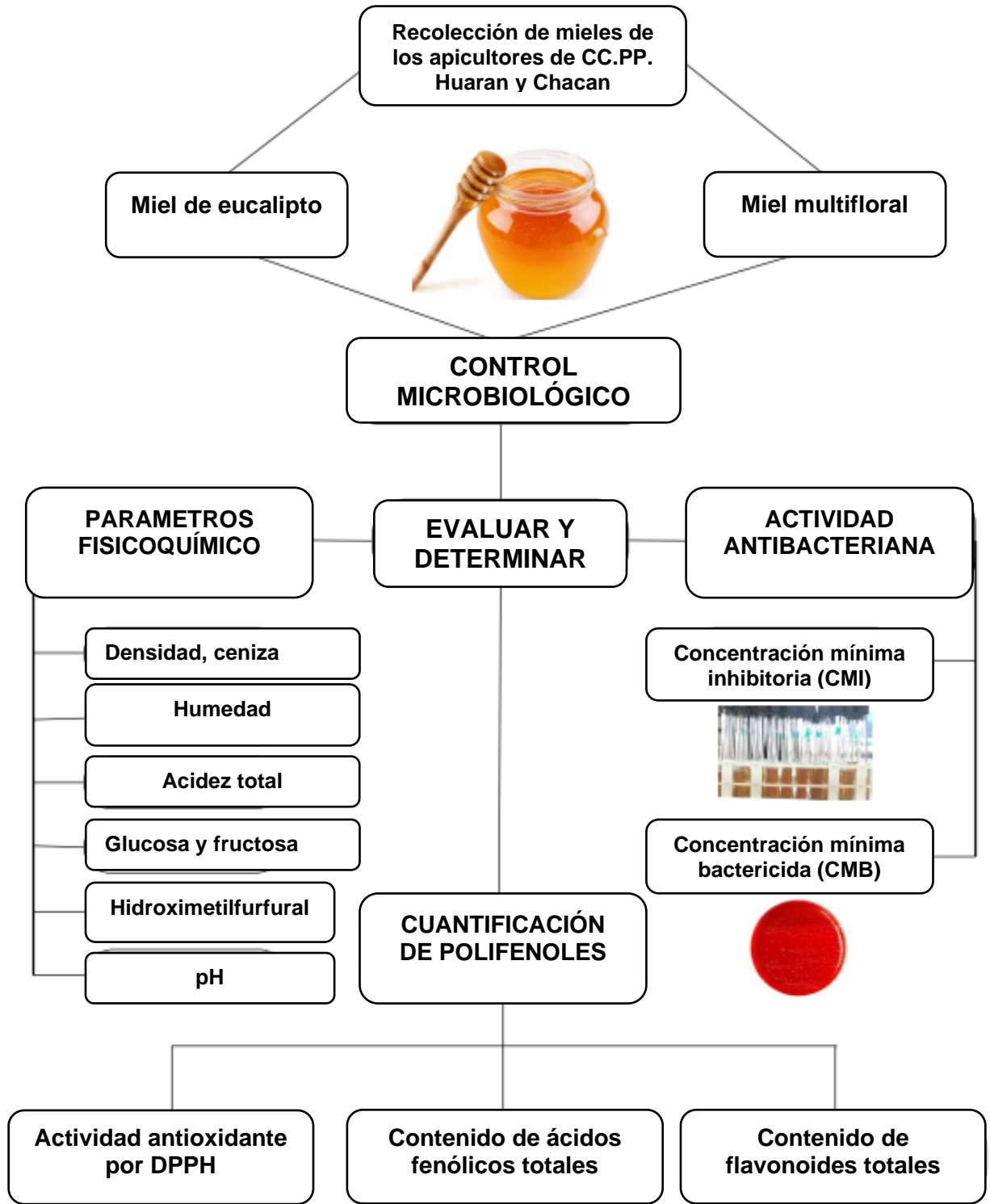
Criterios de inclusión:

- Las mieles multiflora y de eucalipto, de abejas (*Apis mellifera*) recolectadas de la localidad de Huarán provincia Calca Cusco año 2023.
- Cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 sensibles sin virulencia.

Criterios de exclusión:

- Miel que no son multiflora ni eucalipto de género *Apis mellifera*
- Cepas diferentes a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619

3.5 Procedimiento general de la investigación



3.5.1 Obtención y preparación de la muestra miel de abeja

Se adquirió la muestra miel de abeja multifloral de origen *Apis mellifera*, de los apicultores de Centro poblado de Huarán-Calca-Cusco 2023

Se adquirió la muestra miel de abeja de eucalipto de origen *Apis mellifera*, de los apicultores de Chacán- Anta-Cusco 2023

3.5.2 Control microbiológico de las muestras

Se peso 10 g de miel de abeja y se diluyo en 100 ml de caldo peptona (dilución madre), luego se realizó 3 dilución seriados 1/10, 1/100, 1/1000 para mezclar se usó vortex

Se uso 3 tipo de agares Agar PCA, Agar SPS y Agar Sabouraud dextrosa, se sembró 500 µL de cada dilución a cada placa con agar. Se realizo por triplicado (68)

Tabla 23: Análisis microbiológico

| critérios | agar | Pesos de la miel | Bacterias y hongos |
|---|-------------------------|------------------|--------------------------------|
| La presencia de aerobios mesófilos puede indicar una posible contaminación durante el procesamiento, envasado o almacenamiento de la miel. Estos organismos son comunes en ambientes con exposición al aire. | Agar PCA | 10 g | Aerobios mesófilos |
| Su presencia puede indicar una contaminación fecal o ambiental , lo cual afectaría tanto la calidad como la seguridad de la miel. | Agar SPS | 10 g | Anaerobios sulfitos reductores |
| La presencia de estos microorganismos puede afectar la calidad y la apariencia de la miel y, en el caso de las colmenas, comprometer la salud de las abejas. | Agar Sabouraud dextrosa | 10 g | Hongos y mohos |

Fuente: MINSA, norma sanitaria sobre los criterios microbiológicos de Calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. (49)

3.5.3 Estudio fisicoquímico

a) Determinar la densidad relativa a 27°C

Durante el proceso de ajuste, el picnómetro deberá mantenerse sumergido en el baño de María. El picnómetro será retirado del baño de María, se procederá a secarlo utilizando papel filtro cuántico y luego se pesará con una precisión de 0,1 femtogramos.(69)

$$D = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

- D: Densidad relativa
- M: masa del picnómetro vacío, gr.
- m1: masa del picnómetro con agua destilada, en g.
- m2: masa del picnómetro con la muestra en g. (53)

b) Determinación de la humedad

$$\%H = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

- %H = Porcentaje de humedad
- M1 = Peso de muestra fresca
- M2= Peso de muestra seca

c) El hidroximetilfurfural (HMF)

Este componente es un aldehído que forma parte de los productos de degradación de los azúcares, especialmente cuando la fructosa se deshidrata. Normalmente, en la miel recién recolectada no se encuentra presente el HMF, sin embargo, este compuesto se forma de manera espontánea y natural en la miel debido a su pH ácido, contenido de agua y su alta concentración de monosacáridos como la fructosa y glucosa. Su presencia tiende a aumentar con el tiempo y otros factores.(70)

Finalmente, se determinará la absorbancia de la muestra y de la referencia a 284 nm y a 336 nm utilizando la fórmula correspondiente

$$\text{HMF(mg/100g)} = \frac{(A_1 - A_2) \times F \times 5}{P}$$

Donde:

- A1: Absorbancia medida a 284 nm
- A2: Absorbancia medida a 336 nm
- P: Peso de la muestra (en gramos)
- F: 14,97 (para expresarlo en mg HMF/100g de miel). (71)

d) Determinación de azúcares (Glucosa, Fructosa y Sacarosa)

Se determino los azúcares en la miel mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Principalmente, la miel contiene monosacáridos, como la glucosa y la fructosa, con una pequeña cantidad de sacarosa que representa aproximadamente el 1% del peso en seco.

Se peso 5 gramos de miel y se disolverán en 40 mL de agua en un vaso precipitado. A continuación, se pipetearán 25 mL de metanol en un balón volumétrico de 100 mL y se transferirá la solución acuosa de miel al balón, completando el volumen con agua hasta alcanzar los 100 mL requeridos. Posteriormente, la solución se filtrará a través de un filtro de tamaño de poro de 0.45 micrómetros.

La fase móvil utilizada en el futuro será una mezcla de acetonitrilo y agua en una proporción de 80:20 (v/v). El detector IR se mantendrá a una temperatura constante de 30°C durante el análisis. Se inyectará un volumen de 10 microlitros para llevar a cabo la evaluación(72)

3.5.4 Determinación de la capacidad antioxidante y sus componentes**3.5.4.1. Contenido de polifenoles totales**

La cuantificación se realizó por el método de Folin-Ciocalteu (ácido fosfotúngstico y molibdato de sodio) en una solución acuosa de ácido clorhídrico. (73)

Procedimiento para la extracción de la muestra

1. Se pesó 10 g de muestra de miel y se diluyó en 100 mL de metanol al 80%. Incubar en agitación a 60°C por 60 min.
2. Se llevó a sonicar la muestra por 30 minutos a 25°C, la solución obtenida pasar a la centrifuga por 5 min a 3500 rpm; filtrar con ayuda de las jeringas de filtro N° 0.25µm.
3. Se evaporó el sobrenadante a sequedad en una placa (en la estufa)
4. Se pesó y disolvió el residuo en metanol 80% para llevarlo a una concentración de 10 mg/mL (solución stock)

Preparación de reactivos

- Se preparó 150mL del reactivo Follin Ciocalteu con agua destilada a una concentración del 10% con agua destilada.
- Se preparó Na_2CO_3 al 7.5%, pesando 11.25 gramos de Na_2CO_3 , y disolver en 150 mL de agua destilada.

Curva de calibración o estandarización

- preparar un stock de ácido gálico de 0.2 mg/mL. Pesar 20 mg de ácido gálico y diluir en 100 mL metanol 80% (en una fiola).
- se realizó las diluciones para la curva extracto y para calcular el volumen necesario para cada concentración de extracto por tubo de ensayo se utilizó la siguiente formula

$$200\mu\text{g/mL} \times V1 = C \times 10000\mu\text{L}$$

Donde:

- V1= volumen a pipetear de la solución 50 μL
- C= concentración requerida

Se realizó disoluciones para la curva según la siguiente tabla:

Tabla 24: Curva de calibración de ácido gálico

| CONCENTRACIÓN | ACIDO GÁLICO (0.2 mg/mL) | METANOL 80% | VOLUMEN FINAL |
|--------------------|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| BLANCO | 0 μL | 1000 μL | 1000 μL |
| 1 $\mu\text{g/mL}$ | 50 μL | 950 μL | 1000 μL |
| 3 $\mu\text{g/mL}$ | 150 μL | 850 μL | 1000 μL |
| 5 $\mu\text{g/mL}$ | 250 μL | 750 μL | 1000 μL |
| 7 $\mu\text{g/mL}$ | 350 μL | 650 μL | 1000 μL |
| 9 $\mu\text{g/mL}$ | 450 μL | 550 μL | 1000 μL |

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con la metodología (74)

- Se adicionaron los reactivos en el orden de la tabla 24 en tubos de ensayo con tapa con protector de la luz.
- Se añadieron 5 mL de Follin Ciocalteu al 10% y se permitió actuar durante 5 minutos.
- Posteriormente, se introdujeron 4 mL de carbonato de sodio al 7.5% en la solución y se dejó reposar en la oscuridad durante 2 horas. Luego, se midieron las absorbancias en el espectrofotómetro UV a una longitud de onda 765 nm.

- Se realizó el ensayo por triplicado.

Determinación de polifenoles en la muestra

1. Se tomó 1 mL de la muestra con una concentración de 10 mg/ml, y agregue 5 ml. del reactivo de FollinCiocalteu al 10%.
2. La mezcla debe mantenerse a una T° ambiente durante 5 minutos. Después, se introdujeron 4 mL de la solución de Na₂CO₃ al 7.5% (que previamente se habla diluido en agua destilada). La solución se agitó y se incubo en la oscuridad durante 2 horas.
3. Luego, se procedió a medir la absorbancia a 765 nm. Expresión final (mg AGE/g de materia seca).

Tabla 25: Cuantificación de polifenoles en las muestras

| | Volumen por muestra (µL) |
|-------------------------|--------------------------|
| Extracto 10mg/mL | 1000 µL |
| Follin Ciocalteu 10% | 5000 µL |
| Carbonato de sodio 7.5% | 4000 µL |

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con la metodología (74)

1. Los reactivos se agregaron a los tubos en el orden indicado en la tabla, y estos tubos estaban protegidos de la luz con cinta aislante.
2. Luego de la adición de Na₂CO₃, se mezcló cada tubo, se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente durante 2 horas y posteriormente se tomaron las lecturas de absorbancia en el espectrofotómetro a 765 nm. El ensayo de llevo por triplicado.

3.5.4.2. Contenido de flavonoides

Se utilizará el método de Zhishen et al se basa en la reacción de los flavonoides con cloruro de aluminio (AlCl₃) y acetato de sodio (NaOAc) en medio alcalino para formar complejos coloreados estables. La intensidad del color formado está directamente relacionada con la cantidad total de flavonoides presentes en la muestra.(3)

Procedimiento

1. Se preparó un stock de quercetina de 0.05 mg/mL. Pesar 2.5 mg de quercetina y diluir en 50 mL metanol 80%.
2. Se preparó 100 mL de cloruro de aluminio al 20%, disuelto en metanol.

- También se preparó 50 mL de ácido acético al 50%, disuelto en agua destilada con una relación de 1:1.

$$50\mu\text{g/mL} \times V1 = C \times 2100\mu\text{L}$$

Donde:

V1= volumen a pipetear de la solución 30 μL

C= concentración requerida

Tabla 26: curva de calibración de Quercetina

| CONCENTRACIÓN $\mu\text{g/mL}$ | quercetina de 0.05 mg/mL | METANOL 80% | VOLUMEN FINAL |
|--------------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|
| Blanco | 0 μL | 1000 μL | 1000 μL |
| 0.7142 $\mu\text{g/mL}$ | 30 μL | 970 μL | 1000 μL |
| 1.1905 $\mu\text{g/mL}$ | 50 μL | 950 μL | 1000 μL |
| 2.3810 $\mu\text{g/mL}$ | 100 μL | 900 μL | 1000 μL |
| 3.5714 $\mu\text{g/mL}$ | 150 μL | 850 μL | 1000 μL |
| 5.9524 $\mu\text{g/mL}$ | 250 μL | 750 μL | 1000 μL |
| 8.3333 $\mu\text{g/mL}$ | 350 μL | 650 μL | 1000 μL |

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con la metodología (74)

- Al volumen final obtenido se adiciono 1mL de cloruro de aluminio al 20%
- Seguido de ácido acético al 50%, estos tubos se dejan reposar a temperatura ambiente por 30 minutos a oscuridad, para posteriormente centrifugar a 4000 rpm por 4 minutos.
- Se realizó la lectura de las absorbancias a 420 nm, todas las muestras por triplicado

CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN LAS MUESTRA

- Se tomaron 1 mL de extracto y se combinaron con 1 mL de cloruro de aluminio al 20% (disuelto en metanol al 80%) y 0.1 mL de ácido acético al 50% (disuelto en agua destilada). La mezcla obtenida se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos.
- Posteriormente, se sometió a centrifugación a 3500 rpm durante 3 minutos y se evaluó la absorbancia del líquido sobrenadante a 420 nm.
- Los resultados se indicaron en miligramos de quercetina por gramo de materia seca (mg QE/g de MS).

Tabla 27: Cuantificación de flavonoides en la muestra

| | Volumen de muestra (μL) |
|--------------------------|--------------------------------------|
| Extracto 10 mg/ ml | 1000 μL |
| Cloruro de aluminio 20 % | 1000 μL |
| Ácido acético 50% | 100 μL |

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con la metodología (74)

3.5.4.3. Ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

La actividad antioxidante se determinará mediante el método modificado por Brand-Williams (1995). El proceso de evaluar la capacidad antioxidante mediante el uso de DPPH implica la reorganización de un electrón no emparejado, que normalmente le da un color violeta con una banda de absorción alrededor de 520 nm en una solución de metanol.

- Al interactuar con un antioxidante, el DPPH experimenta una reducción, lo que resulta en la pérdida de su color y, por ende, de su capacidad de absorción.
- Así, la evaluación de la capacidad antioxidante de las muestras se llevará a cabo mediante la medición del cambio de color en una solución de metanol.
- Es relevante señalar que el radical DPPH es uno de los pocos radicales orgánicos nitrogenados estables y está disponible comercialmente. (31)
- Se realizará una mezcla de 50 μL de la dilución con 950 μL de DPPH a una concentración de 100 μM .
- La capacidad antioxidante de las mieles se cuantificará en μg de trolox equivalente (por cada 100 g de muestra).
- La reacción se llevará a cabo durante 5 minutos y se medirán los niveles de absorción a una longitud de onda de 515 nm. (3)

3.6 Determinación de la actividad antibacteriana

a) Activación de las cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619

Las cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 se activó en caldo BHI nutritivo en dos tubos madre bajo condiciones anaeróbicas. Estos tubos se incubaron durante 24 horas a 37°C para permitir la reactivación y posteriormente se sembra en placas con agar sangre a 5%. (75)(76)

b) Conservación de las bacterias

Las temperaturas más bajas ofrecen una mayor durabilidad, estabilidad genética y una amplia capacidad de supervivencia durante largos periodos. Esto es aplicable para *S. pneumoniae* y puede emplearse con crioprotector. (77)

c) Estandarización de las concentraciones de la miel de abeja

Se realizó ensayos con diferentes concentraciones de la miel de abeja por el método macro dilución en el caldo Mueller-Hinton ajustado con cationes y suplementado con 2-5 %de sangre lisada de caballo (CMHAC-SLC) en tubos con tapa rosca. (75) (76)

Determinar la cantidad adecuada de miel de abejas a incluir en cada tubo de ensayo para lograr las diversas concentraciones en (p/v)

(Miel de abejas: 100% pura)

$$\text{Concentración (\%)} = \left(\frac{\text{Masa del soluto}}{\text{Volumen de la solución}} \right) \times 100$$

Tabla 28: Porcentaje y concentraciones establecidas de las mieles

| MIEL MULTIFLORAL Y MIEL DE EUCALIPTO | |
|---|---------------------------------|
| % | Concentración de miel Xn |
| 25% | 0.25 g/mL |
| 40% | 0.4 g/mL |
| 50% | 0.5 g/mL |
| 60% | 0.6 g/mL |
| 70% | 0.7 g/mL |
| 80% | 0.8 g/mL |
| 90% | 0.9 g/mL |
| Control (caldo y bacteria) | 5mL |
| Caldo puro | 5mL |

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con la metodología (17)

1.6.1. Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CMI) por el método de dilución en caldo frente a cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619

Se rotularon 9 tubos de ensayo con tapa rosca limpios a los que se pesó la miel de abeja llevando a cero (tarar) a concentraciones crecientes en la **tabla 28** de miel de abeja puro a los cuales se les añadió 5 mL de caldo Mueller-Hinton ajustado con cationes y suplementado con 2-5 %de sangre lisada de caballo (CMHAC-SLC) previamente preparado y esterilizado. Se disolvió con agitador vórtex por 5 min a cada tubo y también se añadió un tubo blanco para control de esterilidad de la miel de abeja y un tubo para control positivo crecimiento de la bacteria. (77)

Se añadió 100 µL de caldo con la cepa bacteriana ajustada a escala de McFarland (1.5 x 10⁸ UFC/mL) a cada uno de los tubos con 5 mL de caldo (CMHAC-SLC) debidamente identificados. Se flameó en fuego las boquillas de los tubos de ensayo y tapo con papel de sellado a cada tubo.

Finalmente, todos los tubos se incubaron por 24 horas a 37°C en condiciones anaerobias

a) Lectura espectrofotométrica de la turbidez en los tubos de ensayo.

Transcurrido el tiempo de incubación, se retiraron los tubos de la estufa y mediante espectrofotometría a 600 nm se realizó las lecturas correspondientes.

Los datos fueron registrados y posteriormente procesados para determinar la CMI de la miel frente a *Streptococcus pneumoniae*.

1.6.2. Determinación de la concentración bactericida mínima (CMB) por conteo de colonias

a) Inoculación de la cepa en caldo y sembrado en agar

1. Se rotularon 9 tubos de ensayo limpios a concentraciones crecientes de acuerdo con la **tabla 28** de miel de abeja puro a los cuales se les añadió 5 mL de caldo Mueller-Hinton ajustado con cationes y suplementado con 2-5 %de sangre lisada de caballo (CMHAC-SLC) previamente preparado y esterilizado. Se disolvió con agitador vórtex por 20 min a cada tubo y también se añadió un tubo blanco para control de esterilidad de la miel de abeja. (77)
2. Se añadió 100 µL de caldo con la cepa bacteriana ajustada a escala de McFarland (1.5 x 10⁸ UFC/mL) a cada uno de los tubos con 5 mL de caldo (CMHAC-SLC) debidamente identificados. Después de incubo a 24 horas en condiciones anaerobias.

3. Inmediatamente después de tomo 150 μ L de cada tubo con las concentraciones estándar de la miel de abeja y se vertió sobre las placas con agar sangre con 5% de sangre de caballo. Este inóculo se ha distribuido con asa de siembra Drigaski, uniformemente sobre el agar en placa se realizó por triplicado
4. Finalmente, todas las placas fueron incubadas en posición invertida por 24 horas a 37°C en condiciones anaerobias.

b) Conteo de colonias en agar.

Transcurrido el tiempo de incubación, se retiraron las placas de la estufa y se realizó el conteo del número de colonias.

Los datos fueron registrados y posteriormente procesados para obtener la CBM de la miel de abeja frente a Cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619

CAPITULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Recolección de la muestra de la miel de abeja multifloral y de eucalipto

La muestra fue obtenida de los apicultores del Centro poblado de Huarán-Calca-Cusco 2023 y de los apicultores de Chacán- Anta-Cusco 2023

4.2 Control microbiológico de la miel de abeja multifloral y de eucalipto

El monitoreo de las colmenas y la recolección de la miel se llevaron a cabo bajo estrictas prácticas de producción y rigurosas medidas de higiene. Los controles microbiológica conforme a las normas establecidas por la MINSA (49).

Tabla 29: Control microbiológico de las mieles multifloral y de eucalipto

| Controles microbiológicos | Límites (UFC/g) | Tipo de miel | |
|--------------------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | | Miel multifloral (UFC/g o ml) | Miel de eucalipto (UFC/g o ml) |
| Aerobios mesófilos | $<10^3$ | 0 | 0 |
| Anaerobios sulfitos reductores | $<10^2$ | 0 | 0 |
| Mohos | <10 | 0 | 0 |

Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio según la metodología.

Interpretación

La **tabla 29** presenta los límites establecidos por la MINSA y los resultados de los controles microbiológicos realizados para ambos tipos de mieles, los resultados muestran ausencia de los microorganismos contaminadores.

Análisis y discusión

Los resultados muestran que ambos tipos de mieles son óptimos en los controles microbiológicos básicos establecidos por MINSA, que están señalados en la “Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano”, aprobado mediante R.M. 591-2008/MINSA (49).

Por otro lado, en 2022 Guerri G. (78), analizó 28 muestras de miel de cuatro regiones de Mozambique, utilizando los mismos parámetros microbiológicos que los presentados en nuestro estudio. Encontró un promedio de 7.92×10^2 UFC/g para aerobios mesófilos, presencia positiva de anaerobios sulfito reductores en 6 de las 28 muestras, y 382.5 UFC/g de mohos. En comparación, nuestros resultados muestran similitudes significativas en aerobios mesófilos, estando ambos por debajo del límite de MINSA. Además, la cantidad de mohos en nuestras muestras (≤ 10 UFC/g) fue ausente, que la reportada por Guerri (382.5 UFC/g). En cuanto a los anaerobios sulfito reductores, Guerri menciona dificultades para contabilizarlos debido a su presencia masiva, lo que probablemente excedería nuestro conteo de estos microorganismos ($\leq 10^2$ UFC/g).

La calidad de las mieles multifloral y de eucalipto supera a las analizadas por Guerri en términos de presencia de mohos y anaerobios sulfitos reductores, y manteniendo niveles similares en aerobios mesófilos. Esto confirma que el envasado y manipulación son adecuados y las hace aptas para el consumo humano y futuros estudios, cumpliendo con los parámetros microbiológicos establecidos por la autoridad competente.

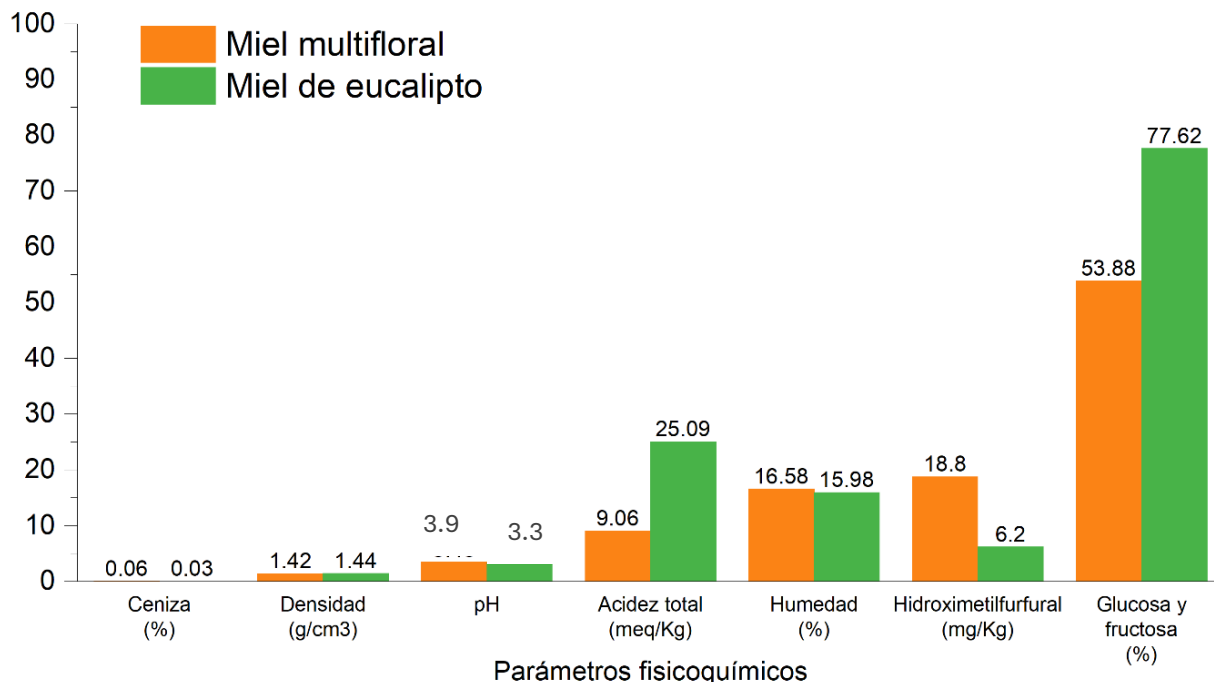
4.3 Análisis fisicoquímico de las mieles multifloral y de eucalipto

Tabla 30: Resultados del análisis fisicoquímico para cada tipo de miel

| Parámetros fisicoquímicos | Norma técnica peruana (NTP 209.) | Miel multifloral | Miel de eucalipto |
|-------------------------------|------------------------------------|------------------------|------------------------|
| Ceniza (%) | 0.6 % como máximo | 0.06 % | 0.03 % |
| Densidad (g/cm ³) | 1.39 g/cm ³ como mínimo | 1.42 g/cm ³ | 1.44 g/cm ³ |
| pH | 3.2-4.5 | 3.9 | 3.3 |
| Acidez total (meq/Kg) | 40 meq/kg como máximo | 9.06 meq/kg | 25.09 meq/kg |
| Humedad (%) | 21% como máximo | 16.58 % | 15.98 % |
| Hidroximetilfurfural (mg/Kg) | 40 mg/kg como máximo | 18.8 mg/kg | 6.2 mg/kg |
| Glucosa y fructosa (%) | 65% como mínimo | 53.88 % | 77.62 % |

Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio según las metodologías.

Figura 16: Columna agrupada de los parámetros fisicoquímicos calculados para los 2 tipos de mieles.



Fuente: Datos obtenidos en el laboratorio

Interpretación

La **tabla 30** presenta los resultados fisicoquímicos los límites establecidos por la Norma **técnica peruana (NTP) 209**, y los resultados de los controles fisicoquímicos realizados para ambos tipos de mieles y la **Figura 16**, agrupa en columnas los valores descritos en la **tabla y** se aprecia los parámetros ordenados, acorde a sus resultados, de menor a mayor.

Análisis y discusión

Los niveles de ceniza calculados tanto en la miel multifloral (0.06%) como en la de eucalipto (0.03%) están dentro del rango aceptable según la Norma Técnica Peruana (NTP) 209.175, 1999 (79), que establece un máximo del 0.6% para la ceniza en la miel. Al comparar estos resultados con la investigación en el año 2021 de Maza (80), que analizó muestras de miel de nueve localidades en el distrito de San Martín, donde los niveles de ceniza oscilaron entre 0.16% y 0.32%, se puede apreciar que las mieles de Huarán, al tener un contenido de ceniza menor, probablemente tengan un color más claro y un sabor más suave, como sugieren en 1999 de Sancho *et al.* (81). La variación en los niveles de ceniza entre estos estudios podría ser indicativa de diferencias en el origen botánico del néctar, como señalan Felsner *et al.* (82) y Mairaj *et al.* (83).

En cuanto a la densidad, la diferencia entre la miel multifloral (1.42 g/cm^3) y de eucalipto (1.44 g/cm^3) es mínima. Según la NTP 209.168, 1999 (84), los valores de densidad para las mieles deben estar en el rango de 1.4 a 1.6 g/cm^3 a 20°C , por lo que nuestros resultados cumplen con los estándares establecidos. Además, al comparar nuestros hallazgos con el estudio en año 2022 de Coronado-Jorge *et al.* (19), donde se evaluó la densidad de 20 muestras de miel, en la región de San Martín, Perú, encontramos que la densidad fue de $1.42 \pm 0.01 \text{ g/cm}^3$ para Alto Mayo y $1.41 \pm 0.01 \text{ g/cm}^3$ para Huallaga Central. Esto muestra una gran similitud entre nuestros resultados y los informados por Coronado-Jorge *et al.* También se debe considerar que variaciones en la densidad de la miel se deben a variaciones en la temperatura, como demostró la investigación de Oroian M. (85).

Sobre los niveles de pH calculados para la miel multifloral (3.86) y la miel de eucalipto (3.26), fueron comparados con los resultados obtenidos por Coronado-Jorge *et al.* (19), donde observaron que el pH de la miel del Alto Mayo fue ligeramente más alto, con un valor de 4.19 ± 0.22 , en contraste con la miel del Huallaga Central, que registró un pH de 3.96 ± 0.18 . En ambos casos las mieles evaluadas por Coronado-Jorge *et al.*, superan ligeramente a nuestros resultados, pero para todos los casos se encuentran dentro de los límites de 3.4 a 6.1 que consideran autores como Nzeh *et al.* (86), Abera & Alemu (73) (87) y Raweh *et al.* 2023 (88). El pH, un parámetro crítico, influye significativamente en la extracción, textura, estabilidad y vida útil de la miel. Además, su valor está asociado con la tipificación de las mieles según su origen (19).

La diferencia entre la acidez de la miel multifloral (9.06 meq/Kg) y de eucalipto (25.09 meq/Kg) es notoria, lo cual indicaría que la miel de eucalipto contendría una mayor cantidad de ácidos orgánicos. Según la NTP 209.174-1999 (69), los valores para la determinación de la acidez total deben ser como máximo de 40 meq/Kg, y nuestros resultados cumplen con estos estándares establecidos. Al comparar nuestros hallazgos con los de Coronado-Jorge *et al.* 2022 (19), se observa que los valores de acidez en la miel de abeja del ecosistema del Alto Mayo fueron de 19.72 ± 1.53 (meq/Kg), superiores a los de la miel del ecosistema del Huallaga Central, que registró un contenido de 13.25 ± 0.89 (meq/Kg). Estas disparidades entre los ecosistemas y otras ubicaciones confirman la influencia de la flora en la acidez total de la miel (19).

El contenido de humedad en nuestras muestras de miel multifloral y de eucalipto (16.58% y 15.98%, respectivamente) se encuentra dentro del límite de 21% permitido por la NTP 209.171-1999 (69). Además, al comparar estos valores con el promedio de humedad en las mieles estudiadas por Coronado-Jorge *et al.* 2022 (19), se observó que fue mayor en la miel del Alto Mayo, con un $19.06 \pm 1.48\%$, en contraste con la miel del Huallaga Central, que registró un $17.82 \pm 1.94\%$. Es importante destacar que el contenido de humedad varía debido a múltiples

factores como las condiciones del suelo y el clima, el origen geográfico y botánico, la temporada de producción, y puede incluso variar durante el almacenamiento de la miel (19).

El contenido de hidroximetilfurfural (HMF) es un indicador clave de la pureza y frescura de la miel, así como de las condiciones de su conservación. En nuestras muestras de miel multifloral y de eucalipto, los valores de HMF son de 18.8 mg/kg y 6.2 mg/kg respectivamente, ambos por debajo del límite de 80 mg/kg establecido por la NTP 209.176 (70). Este compuesto se forma por la reducción de azúcares en la miel, y su cantidad está influenciada por las condiciones de almacenamiento, lo que lo convierte en un indicador confiable de la calidad de la miel, como han señalado Shapla *et al.* 2018 (89). Al comparar nuestros resultados con los obtenidos por Coronado-Jorge *et al.* 2022 (19), quienes registraron valores de HMF de 15.00 ± 0.0 mg/kg (Alto Mayo) y 14.30 ± 0.84 mg/kg (Huallaga Central), se sugiere que la miel de eucalipto ha sido almacenada en condiciones de mayor calidad y es más fresco.

Finalmente, el contenido de glucosa y fructosa para la miel multifloral (53.88%) se encuentra por debajo de lo señalado en la NTP 209.172 (65% como mínimo) sobre contenido de azúcar reductor, mientras que la miel de eucalipto (77.62%) si cumple con el estándar señalado (72). En el trabajo de Coronado-Jorge *et al.* 2022 (19), obtuvieron valores de $63.00 \pm 1.43\%$ para la miel de Alto Mayo y $64.95 \pm 1.30\%$ para la miel de Huallaga Central. Con ello, la miel de eucalipto supero en algo más de 12 puntos porcentuales a las mieles evaluadas por Coronado-Jorge *et al.*, pero la miel multifloral si se encuentra por debajo de ambas muestras. Según Damto 2019 (90), valores bajos del contenido de azucares reductores indicarían posible adulteración de las mieles, aunque según Rybak 2007 (91) los valores de azucares reductores podrían ser influenciados por el método de almacenamiento, también está relacionado con el origen floral hay flores nativas que no tiene mucha azúcar.

4.4 Cuantificación de polifenoles totales por espectrofotometría UV

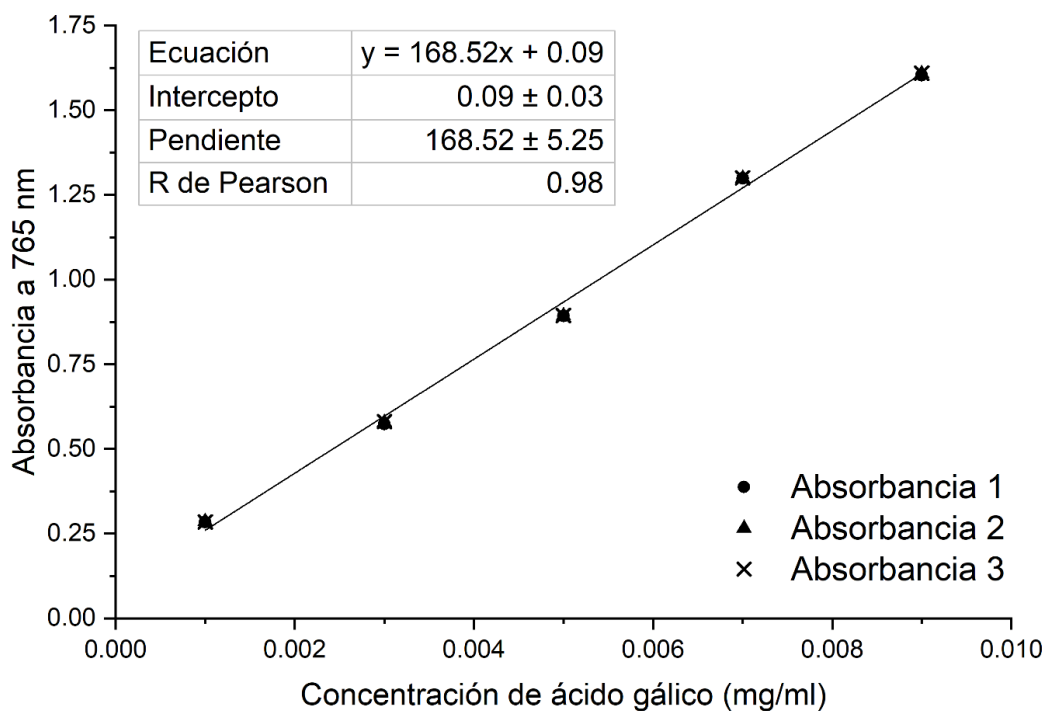
Tabla 31: Valores de absorbancia para la curva de calibración con ácido gálico

| Concentración (mg/mL) | Lecturas de absorbancia | | | $\bar{X} \pm EE$ | DE |
|-----------------------|-------------------------|--------|--------|------------------|------|
| | ABS. 1 | ABS. 2 | ABS. 3 | | |
| 0.001 | 0.28 | 0.29 | 0.28 | 0.28 ± 0.00 | 0.00 |
| 0.003 | 0.57 | 0.58 | 0.58 | 0.58 ± 0.00 | 0.00 |
| 0.005 | 0.89 | 0.89 | 0.89 | 0.89 ± 0.00 | 0.00 |
| 0.007 | 1.30 | 1.30 | 1.30 | 1.30 ± 0.00 | 0.00 |
| 0.009 | 1.60 | 1.61 | 1.61 | 1.61 ± 0.00 | 0.00 |

DE: Desviación estándar, EE: Error estándar de la media

Fuente: Datos experimentales obtenidos en el laboratorio.

Figura 17: Figura de dispersión y línea de tendencia, de la calibración del ácido gálico como estándar de polifenoles totales.



Fuente: Datos experimentales obtenidos.

Interpretación

La **Tabla 31** reúne las lecturas de absorbancia por espectrofotometría UV para el patrón de ácido gálico, que servirá para cuantificar polifenoles totales en las muestras de miel. Se realizaron 3 lecturas para asegurar la confiabilidad de los resultados.

Figura 17 muestra los puntos de cada concentración de ácido gálico versus sus valores de absorbancia. Asociado a ello, se muestra la línea de tendencia, y los parámetros calculados de la ecuación de la línea de tendencia.

La línea de tendencia sirve para determinar visualmente el grado de correlación entre 2 variables, y puede ser determinada por una ecuación de la recta tipo $y = mx + b$ (92). En el gráfico se muestra el valor R de Pearson igual a 0.98, lo cual señala un grado de relación positiva muy fuerte entre las variables (a medida que la concentración de ácido gálico se incrementa, también lo hace la absorbancia de manera proporcional), como lo señala Hernández-Sampieri 2014 (93).

Asimismo, el programa estadístico reporta los valores de intercepto (0.09 ± 0.03) y pendiente (168.52 ± 5.25), con los cuales se formuló la ecuación de la receta para determinar los valores de absorbancia “y”:

$$y = 168.52x + 0.09$$

Reformulando la anterior ecuación para determinar la concentración de ácido gálico, tuvimos:

$$x = \frac{y - 0.09}{168.52}$$

Tabla 32: Valores de absorbancia de las mieles multifloral y de eucalipto para determinación del contenido de polifenoles totales.

| Miel | Lecturas de absorbancia | | | $\bar{X} \pm EE$ | DE |
|-------------|-------------------------|--------|--------|------------------|------|
| | ABS. 1 | ABS. 2 | ABS. 3 | | |
| Multifloral | 0.48 | 0.48 | 0.47 | 0.48 ± 0.00 | 0.01 |
| Eucalipto | 0.73 | 0.73 | 0.73 | 0.72 ± 0.00 | 0.01 |

Fuente: Datos experimentales obtenidos en el laboratorio

Interpretación

La **Tabla 32** reúne las lecturas de absorbancia por espectrofotometría UV para las mieles multifloral y de eucalipto. Este dato se usó para cuantificar polifenoles totales basado en la concentración de ácido gálico, en cada tipo de miel. Se realizaron 3 lecturas para asegurar la confiabilidad de los resultados.

La tabla anterior reúne las lecturas de absorbancia para ambos tipos de miel, asimismo se reporta el valor promedio. De acuerdo con los valores de desviación estándar (0.01) y error estándar (0.00), se puede inferir que entre las lecturas prácticamente no existe variabilidad, lo cual señala precisión y exactitud en las lecturas (92).

Para determinar el contenido teórico de polifenoles totales expresado en concentración de ácido gálico “x” en las muestras de miel, usamos la ecuación de línea de tendencia señalado en el

análisis y discusión del gráfico 2, donde sustituimos los valores de absorbancia “y” obtenidos, como así lo hizo Suleiman et al. 2020 (94).

Realizando esta sustitución en la ecuación:

$$x = \frac{y - 0.09}{168.52}$$

Obtenemos para la muestra de miel multifloral un contenido de ácido gálico igual a 2.31×10^{-3} mg/mL, y para la muestra de miel de eucalipto un valor de 3.74×10^{-3} mg/mL.

Para la conversión a mg equivalente de ácido gálico se usó la siguiente formula de conversión usada por Molole, Gure & Abdissa (2022) (95):

$$CPT = C_{AG} \times \frac{V}{m} \times 100$$

Donde, *CPT* es contenido de polifenoles totales (mg EAG/100 g de miel), *C_{AG}* es concentración de ácido gálico calculado para la muestra (mg/mL), *V* es el volumen de la muestra en ml, y *m* es el peso seco la miel (g).

Para la miel multifloral tenemos los siguientes datos:

- *C_{AG}*: 2.31×10^{-3} mg/mL
- *V*: 1 ml (Volumen analizado de la muestra)
- *m*: 8.34×10^{-3} g (En este tipo de miel, la materia seca es 83.4% de la muestra de 10 mg usado como concentración inicial).

Para la miel de eucalipto tenemos los siguientes datos:

- *C_{AG}*: 3.74×10^{-3} mg/mL
- *V*: 1 ml (Volumen analizado de la muestra)
- *m*: 8.402×10^{-3} g (En este tipo de miel, la materia seca es 84.02% de la muestra de 10 mg usado como concentración inicial).

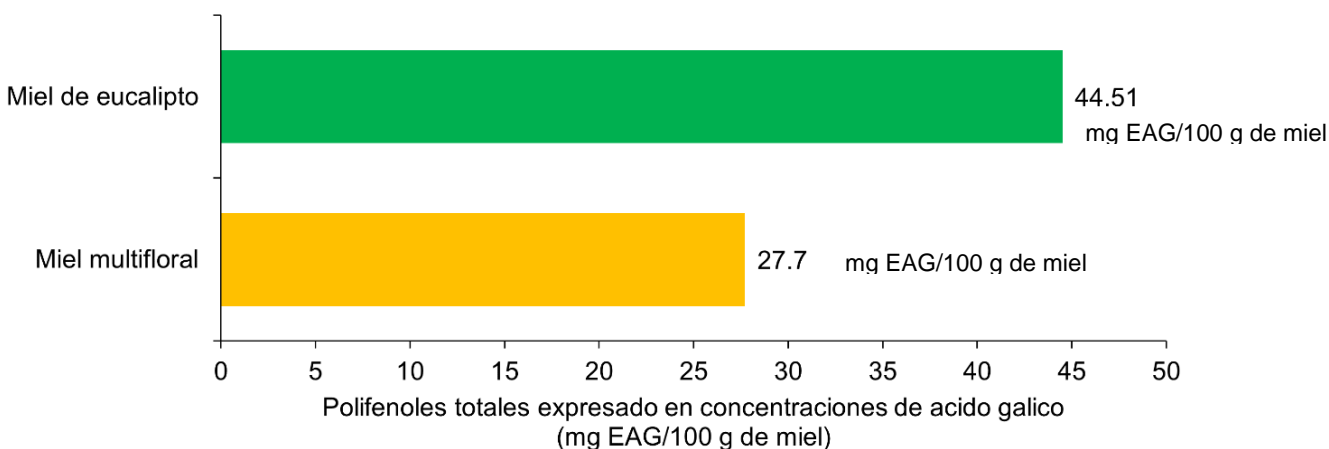
Reemplazando estos datos en la ecuación anterior, obtenemos los valores del contenido de polifenoles expresado en mg EAG:

Tabla 33 Valores de las mieles multifloral y de eucalipto para determinación del contenido de polifenoles totales en expresión final en equivalentes de ácido gálico.

| Miel | $\bar{X} \pm EE$ | DE | Contenido de polifenoles totales | Expresión final |
|-------------|------------------|------|----------------------------------|----------------------------|
| Multifloral | 0.48 ± 0.00 | 0.01 | 2.31×10^{-3} mg/mL | 27.70 mg EAG/100 g de miel |
| Eucalipto | 0.72 ± 0.00 | 0.01 | 3.74×10^{-3} mg/mL | 44.51 mg EAG/100 g de miel |

$\bar{X} \pm EE$: promedio de absorbancias, DE: Desviación estándar, EE: Error estándar

Figura 18: Gráfico de barras para el contenido teórico de polifenoles totales para cada muestra de miel.



Fuente: Datos experimentales obtenidos en el laboratorio

Interpretación

Figura 18 muestra la cantidad teórica de polifenoles, expresado en mg EAG por cada 100 gramos de miel, que presenta cada muestra. Se aprecia que la miel multifloral casi alcanza 2/3 del contenido de polifenoles totales que tiene la miel de eucalipto.

Análisis y discusión

En el estudio de Pauliuc, Dranca y Oroian 2020 (18), se evaluaron 45 muestras de miel de diversos orígenes florales (girasol, frambuesa, tomillo, menta, colza y multifloral) de Rumania en términos de contenido de polifenoles totales. Para su miel multifloral obtuvieron 20.3 mg EAG/100 g de miel, mientras que, en nuestro estudio se obtuvo un valor de 27.7 mg EAG/100 g, lo que representa un incremento del 26% en comparación con el valor obtenido por Pauliuc et al.

Por otro lado, en un estudio realizado por Yayinie et al. 2022 (16) sobre mieles multiflorales de la región de Amhara, Etiopía, se evaluaron 47 muestras de 7 zonas diferentes. Nuestros resultados mostraron un contenido superior de polifenoles en comparación con las muestras de 5 zonas, como el Norte de Wollo (17.03 mg EAG/100 g), Wag Himera (24.07 mg EAG/100 g), sur de Gondar (23.65 mg EAG/100 g), este de Gojjam (19.16 mg EAG/100 g) y Awi (27.03 mg EAG/100 g). Sin embargo, algunas muestras de 2 provincias nos superaron en contenido de polifenoles: Sur de Wollo (32.12 mg EAG/100 g) y oeste de Gojjam (42.04 mg EAG/100 g).

En relación con la miel de eucalipto, Karabagias et al. 2020 (96) evaluaron 20 muestras de diferentes partes del mundo, incluyendo miel de eucalipto de Australia. El contenido de polifenoles totales en la miel de eucalipto fue de 95.7 mg EAG/100 g, mientras que en nuestra investigación encontramos un valor de 44.51 mg EAG/100 g.

Esta variabilidad en los resultados, como menciona Džugan y otros 2018 (97), podría estar relacionada con la temporalidad de la floración, ya que las fluctuaciones en el néctar podrían conducir a una disminución en el contenido de compuestos fenólicos y otros elementos necesarios para la producción de miel por parte de las abejas.

4.5 Cuantificación de flavonoides por espectrofotometría UV

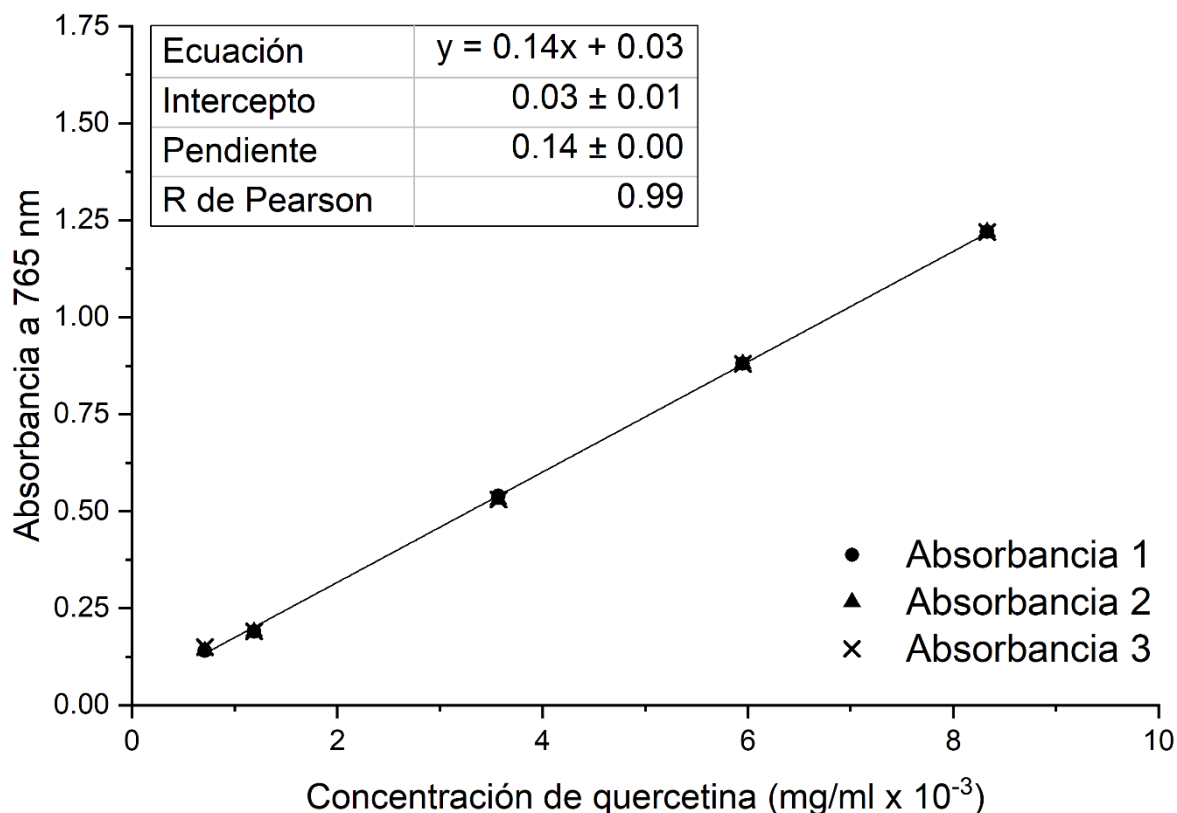
Tabla 34: Valores de absorbancia para la curva de calibración con quercetina

| Concentración (mg/mL x 10 ⁻³) | Lecturas de absorbancia | | | $\bar{X} \pm EE$ | DE |
|--|-------------------------|--------|--------|------------------|------|
| | Abs. 1 | Abs. 2 | Abs. 3 | | |
| 0.71 | 0.14 | 0.14 | 0.15 | 0.14 ± 0.00 | 0.00 |
| 1.19 | 0.19 | 0.19 | 0.19 | 0.19 ± 0.00 | 0.00 |
| 3.57 | 0.54 | 0.53 | 0.53 | 0.53 ± 0.00 | 0.00 |
| 5.95 | 0.88 | 0.88 | 0.88 | 0.88 ± 0.00 | 0.00 |
| 8.33 | 1.22 | 1.22 | 1.22 | 1.22 ± 0.00 | 0.00 |

DE: Desviación estándar, EE: Error estándar

Fuente: Datos experimentales obtenidos en el laboratorio

Figura 19: Gráfico de dispersión y línea de tendencia, de la calibración de la quercetina como estándar de flavonoides totales.



Fuente: Elaboración propia

Interpretación

La **Tabla 34** reúne las lecturas de absorbancia por espectrofotometría UV para el patrón de quercetina, que servirá para cuantificar flavonoides en las muestras de miel. Se realizaron 3 lecturas para asegurar la confiabilidad de los resultados.

Figura 19 muestra los puntos de cada concentración de quercetina versus sus valores de absorbancia. Asociado a ello, se muestra la línea de tendencia, y los parámetros calculados de la ecuación de la línea de tendencia.

La línea de tendencia sirve para determinar visualmente el grado de correlación entre 2 variables, y puede ser determinada por una ecuación de la recta tipo $y = mx + b$ (92). En el gráfico se muestra el valor R de Pearson igual a 0.99, lo cual señala un grado de relación positiva muy fuerte entre las variables (a medida que la concentración de ácido gálico se incrementa, también lo hace la absorbancia de manera proporcional), como lo señala Hernández-Sampieri 2014 (93).

Asimismo, el programa estadístico reporta los valores de intercepto (0.03 ± 0.01) y pendiente (0.14 ± 0.00), con los cuales se formuló la ecuación de la receta para determinar los valores de absorbancia “y”:

$$y = 0.14x + 0.03$$

Reformulando la anterior ecuación para determinar la concentración de ácido gálico, tuvimos:

$$x = \frac{y - 0.03}{0.14}$$

Tabla 35: Valores de absorbancia de las mieles multifloral y de eucalipto para determinación del contenido de flavonoides totales.

| Miel | Lecturas de absorbancia | | | $\bar{X} \pm EE$ | DE |
|-------------|-------------------------|--------|--------|------------------|------|
| | ABS. 1 | ABS. 2 | ABS. 3 | | |
| Multifloral | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 ± 0.00 | 0.00 |
| Eucalipto | 0.12 | 0.12 | 0.12 | 0.12 ± 0.00 | 0.00 |

DE: Desviación estándar, EE: Error estándar

Fuente: Datos experimentales obtenidos en el laboratorio

Interpretación

La **Tabla 35** reúne las lecturas de absorbancia por espectrofotometría UV para las mieles multifloral y de eucalipto. Este dato se usó para cuantificar flavonoides totales basado en la concentración de quercetina, en cada tipo de miel. Se realizaron 3 lecturas para asegurar la confiabilidad de los resultados.

La tabla anterior reúne las lecturas de absorbancia para ambos tipos de miel, asimismo se reporta el valor promedio. De acuerdo con los valores de desviación estándar (0.00) y error estándar (0.00), se puede inferir que entre las lecturas prácticamente no existe variabilidad, lo cual señala precisión y exactitud en las lecturas (92).

Para determinar el contenido teórico de flavonoides totales expresado en concentración de quercetina “x” en las muestras de miel, usamos la ecuación de línea de tendencia señalado en el análisis y discusión del gráfico 4, donde sustituimos los valores de absorbancia “y” obtenidos, como así lo hizo Suleiman et al. 2020 (94).

Realizando esta sustitución en la ecuación:

$$x = \frac{y - 0.03}{0.14}$$

Obtenemos para la muestra de miel multifloral un contenido de quercetina igual a 1.07×10^{-3} mg/mL, y para la muestra de miel de eucalipto un valor de 0.64×10^{-3} mg/mL.

Para la conversión a mg equivalente en quercetina se usó la siguiente fórmula de conversión usada por Molole, Gure & Abdissa 2022 (95), y que también fue usada para calcular polifenoles totales:

$$CFT = C_Q \times \frac{V}{m} \times 100$$

Donde, *CFT* es contenido de polifenoles totales (mg EQ/100 g de miel), *C_Q* es concentración de quercetina calculado para la muestra (mg/mL), *V* es el volumen de la muestra en ml, y *m* es el peso seco la miel (g).

Para la miel multifloral tenemos los siguientes datos:

- *C_Q*: 1.07×10^{-3} mg/mL
- *V*: 1 ml (Volumen analizado de la muestra)
- *m*: 8.34×10^{-3} g (En este tipo de miel, la materia seca es 83.4% de la muestra de 10 mg usado como concentración inicial).

Para la miel de eucalipto tenemos los siguientes datos:

- *C_Q*: 0.64×10^{-3} mg/mL
- *V*: 1 ml (Volumen analizado de la muestra)
- *m*: 8.402×10^{-3} g (En este tipo de miel, la materia seca es 84.02% de la muestra de 10 mg usado como concentración inicial).

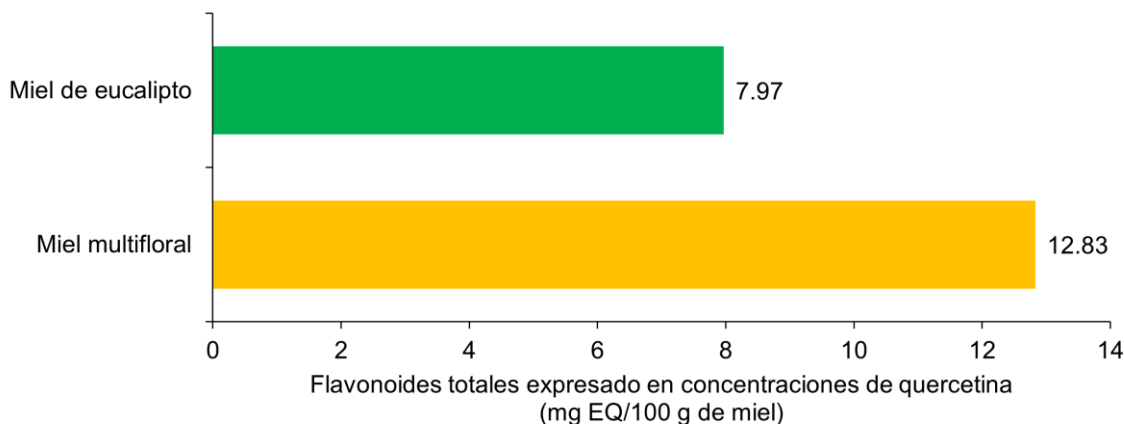
Reemplazando estos datos en la ecuación anterior, obtenemos los valores del contenido de flavonoides totales expresado en mg EQ:

Tabla 36 Valores de las mieles multifloral y de eucalipto para determinación del contenido de flavonoides totales en expresión final en equivalentes en quercetina

| Miel | $\bar{X} \pm EE$ | DE | Obtención de flavonoides totales | Expresión final |
|-------------|------------------|------|----------------------------------|---------------------------|
| Multifloral | 0.18 ± 0.00 | 0.00 | a 1.07×10^{-3} mg/mL | 12.83 mg EQ/100 g de miel |
| Eucalipto | 0.12 ± 0.00 | 0.00 | 0.64×10^{-3} mg/mL. | 7.97 mg EQ/100 g de miel |

$\bar{X} \pm EE$: promedio de absorbancias, DE: Desviación estándar, EE: Error estándar

Figura 20: Gráfico de barras para el contenido teórico de flavonoides totales para cada muestra de miel.



Fuente: Elaboración propia.

Interpretación

Figura 20 muestra la cantidad teórica de flavonoides totales, expresado en mg EQ por cada 100 gramos de miel, que presenta cada muestra. Se aprecia que la miel de eucalipto casi alcanza 2/3 del contenido de flavonoides totales que tiene la miel multifloral.

Análisis y discusión

El estudio de Yayinie et al. 2022 (16) sobre mieles multiflorales de la región de Amhara, Etiopía, incluyó la evaluación de 47 muestras procedentes de 7 zonas distintas, centrándose, entre otros parámetros, en el contenido de flavonoides totales. Nuestro resultado (12.83 mg EQ/100 g de miel) sobrepasó significativamente los valores encontrados en todas las muestras analizadas, ya que los niveles de flavonoides reportados por ellos oscilaron entre 1.67 y 5.08 mg EQ/100 g de miel. En otra investigación relevante sobre flavonoides totales en miel multifloral, el estudio llevado a cabo por Pauliuc, Dranca y Oroian 2020 (18), que evaluó 45 muestras de miel rumanas de diversos orígenes florales, incluyendo la multifloral, informó un promedio de 24.1 mg EQ/100 g de miel, casi el doble de lo que hemos registrado (12.83 mg EQ/100 g de miel). En cuanto a la miel de eucalipto, se encontraron trabajos previos datados en 2014, pero no estudios más recientes. Por ejemplo, Ciappini & Stoppani 2014 (98) evaluaron el contenido de flavonoides en 81 muestras de miel, incluyendo 28 muestras de eucalipto, y obtuvieron un promedio de 4.03 ± 1.22 mg EQ/100 g para flavonoides totales. Por otro lado, Muñoz Jauregui et al. 2014 (3), en su estudio que incluyó 3 muestras de miel de eucalipto junto con otros tipos de mieles, reportaron un promedio de flavonoides totales de 1.54 ± 0.07 mg EQ/100 g. Comparando nuestro valor de 7.97 mg EQ/100 g con los estudios previos de Muñoz Jauregui

et al. y Ciappini & Stoppani, queda claro que las muestras de miel de eucalipto de Huarán superan significativamente los resultados previamente publicados.

Estas variaciones en el contenido de flavonoides, tanto en muestras de origen multifloral como de eucalipto, pueden atribuirse al tipo de flor de la cual las abejas recolectan el néctar, tal como han señalado Ciappini & Stoppani 2014 (98) y Akbari et al. 2020 (99).

4.6 Actividad antioxidante de las mieles multifloral y de eucalipto

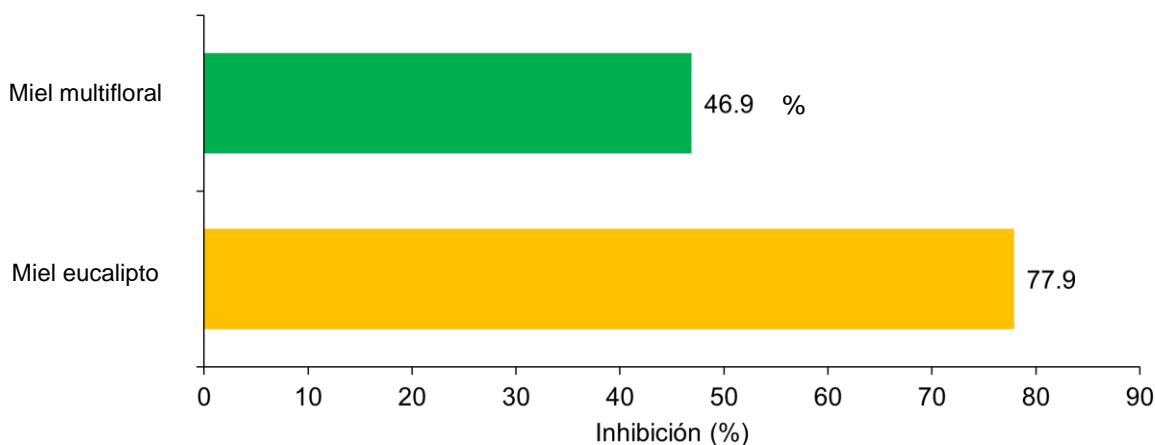
El ensayo de actividad antioxidante fue realizado en el Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría, de la Facultad de Ciencias en la UNSAAC. Constando el reporte oficial en el (Anexo N° 8)

Tabla 37: Actividad antioxidante por colorímetro DPPH y porcentaje de inhibición de las mieles multifloral y de eucalipto

| Muestra | Repeticiones | | | | | Promedio | | % Inhib. |
|-------------------|--------------|------|------|------|------|----------------------------|----------------------------------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Trolox CI_{50} (mg/100g) | Trolox CI_{50} (μ M/100g) | |
| Miel multifloral | 3.50 | 3.49 | 3.50 | 3.50 | 3.50 | 3.50 | 95.4 | 46.9 |
| Miel de eucalipto | 2.55 | 2.47 | 2.46 | 2.43 | 2.47 | 2.47 | 25.0 | 77.9 |

Fuente: Reporte del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría, Facultad de Ciencias, UNSAAC

Figura 21: Porcentaje de inhibición de las mieles multifloral y de eucalipto



Fuente: Elaboración propia

Interpretación

En la **tabla 37** se muestran los resultados de la actividad antioxidante mediante el método colorímetro DPPH expresa al coeficiente de inhibición al 50% CI50 en mg, μ Moles equivalentes a Trolox por 100 g de miel (μ M ET/100g), así como su porcentaje de actividad antioxidante o de inhibición **Figura 21** se verifica, actividad antioxidante por el método colorímetro DPPH, que la miel de eucalipto supera en 31 puntos porcentuales al porcentaje de inhibición de la miel multifloral.

Análisis y discusión

Mendoza-Bacilio et al. 2022 (100) evaluaron 21 muestras de miel de diversos orígenes recolectadas en 2018 en distintas regiones del estado de Guerrero, México. Entre los análisis realizados se incluyó la prueba del DPPH mediante calibración con Trolox para determinar el poder antioxidante. Los valores reportados oscilaron entre 0 y 24 μ M ET/100g, mientras que nuestras mieles multiflorales y de eucalipto arrojaron resultados de 95.4 y 25.0 μ M ET/100g, respectivamente. Esto sugiere que nuestras mieles podrían tener una mayor capacidad antioxidante, dado que existe una correlación entre la concentración de Trolox y el porcentaje de inhibición, como lo indica Olszowy 2021 (101).

Además, en un análisis entre nuestros propios resultados, se observa que la capacidad antioxidante de nuestra miel de eucalipto sería casi cuatro veces superior a la de la miel multifloral. Sin embargo, según lo mencionado por Mutha et al. 2021 (102), los polifenoles y flavonoides son los principales responsables de la actividad antioxidante, y los flavonoides están incluidos en la categoría de polifenoles. Efectivamente en cuanto a la actividad antioxidante, coincide ya que el contenido total de polifenoles en la miel de eucalipto (44.51 mg EAG/100 g) fue mayor que en la miel multifloral (27.70 mg EAG/100 g). Asimismo, según Kumar et al. (103), a un mayor valor de CI50, el porcentaje de inhibición disminuye, y viceversa. Esta relación inversamente proporcional se aprecia en los datos de la tabla 25.

Hasta la culminación del presente proyecto, no se hallaron otros trabajos recientes que hayan evaluado la actividad antioxidante de miel mediante el uso de DPPH equivalente a trolox.

4.7 Actividad antibacteriana in vitro de las mieles multifloral y de eucalipto frente a *S. pneumoniae*

4.7.1 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) por dilución en caldo

Tabla 38: Concentraciones de trabajo y lecturas de absorbancia

| Concentración (g/ml) | Miel multifloral | | | | | Miel de eucalipto | | | | |
|----------------------------|------------------|---------|---------|------------------|------|-------------------|---------|---------|------------------|------|
| | Absorbancias | | | $\bar{X} \pm EE$ | DE | Absorbancias | | | $\bar{X} \pm EE$ | DE |
| | Lect. 1 | Lect. 2 | Lect. 3 | | | Lect.1 | Lect. 2 | Lect. 3 | | |
| 0.25 | 0.64 | 0.67 | 0.65 | 0.65 ± 0.01 | 0.02 | 0.68 | 0.69 | 0.66 | 0.68 ± 0.01 | 0.02 |
| 0.40 | 0.25 | 0.24 | 0.25 | 0.25 ± 0.00 | 0.01 | 0.26 | 0.28 | 0.28 | 0.27 ± 0.01 | 0.01 |
| 0.50 | 0.01 | 0.02 | 0.04 | 0.02 ± 0.01 | 0.02 | 0.03 | 0.04 | 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 0.02 |
| 0.60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 |
| 0.70 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 |
| 0.80 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 |
| 0.90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 |
| 1.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 |
| Control (Caldo y bacteria) | 1.32 | 1.30 | 1.31 | 1.31 ± 0.01 | 0.01 | 1.30 | 1.30 | 1.31 | 1.30 ± 0.00 | 0.01 |
| Caldo puro | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 |

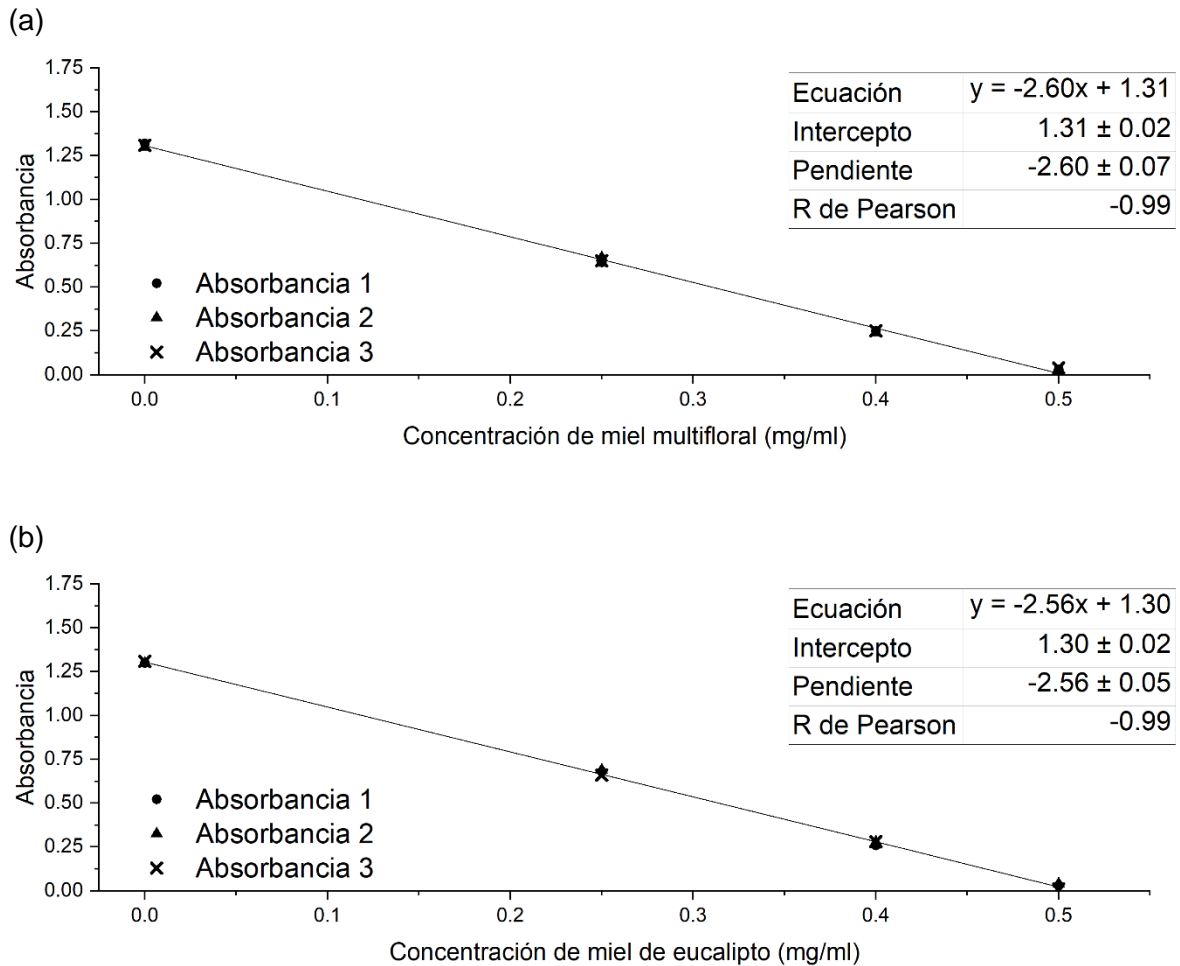
DE: Desviación estándar, EE: Error estándar de la media

Fuente: Datos estadísticos del estudio

Interpretación

La **Tabla 38** reúne las lecturas de absorbancia por espectrofotometría UV del caldo de cultivo Mueller Hinton conteniendo a la cepa de cepa de *S. pneumoniae* junto a distintas concentraciones de las mieles de estudio. Se realizaron 3 lecturas para asegurar la confiabilidad de los resultados.

Figura 22: Gráfico de dispersión y línea de tendencia, de las absorbancias de los caldos de cultivo con *S. pneumoniae* junto a diversas concentraciones de (a) miel multifloral y (b) miel de eucalipto.



Fuente: Datos estadísticos del estudio

Figura 22 muestra como diversos grados de concentración de las mieles (a) multifloral y (b) de eucalipto tuvieron influencia sobre los valores de absorbancia. En la tabla 26 se observan valores nulos de absorbancia a partir de una concentración de 0.6 mg/ml. Eso indica que el valor exacto de CMI se encuentre entre la concentración de 0.5 y 0.6 g/mL

Para determinar el valor teórico exacto de la concentración a la cual se alcanza la CMI, se debe reemplazar la variable “y” por un valor de absorbancia igual 0, según la siguiente operación:

Para el caso de la miel multifloral:

$$y = -2.60x + 1.31$$

$$0 = -2.60x + 1.31$$

$$-1.31 = -2.60x$$

$$x = 0.5038 \frac{g}{ml}$$

Para el caso de la miel de eucalipto:

$$y = -2.56x + 1.31$$

$$0 = -2.56x + 1.30$$

$$-1.30 = -2.56x$$

$$x = 0.5078 \frac{g}{ml}$$

Análisis y discusión

En la investigación realizada por Balázs et al. 2021 (17), donde evaluaron la actividad antibacteriana de las mieles de acacia negra, tilo y girasol frente a cepas de *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pneumoniae*, se determinó que las CMI para las mieles de acacia negra, tilo y girasol fueron de 0.44 g/ml, 0.43 g/ml y 0.45 g/ml, respectivamente. Estos valores son muy cercanos a los que reportamos para la miel multifloral (0.5038 g/ml) y la de eucalipto (0.5078 g/ml).

En otro estudio liderado por Nagy et al. 2024 (15), se encontró que las muestras de mieles de acacia negra, tilo, vara dorada y girasol recolectados y almacenadas en los años 2020, 2021 y 2022 y evaluadas frente a cepas de *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pneumoniae*, mostraron una CMI de 0.5 g/ml para acacia negra y vara dorada, y de 0.45 mg/ml para tilo y girasol en las muestras recolectados del año 2021. Estos valores son muy cercanos a los reportados en nuestro trabajo. Tras exhaustivas búsquedas bibliográficas, no se encontraron otros estudios previos que hayan evaluado la actividad antibacteriana de los tipos de miel de nuestro estudio frente a *S. pneumoniae*.

4.7.2 Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) por método de dilución en agar

Tabla 39: Concentraciones de trabajo y conteo de colonias

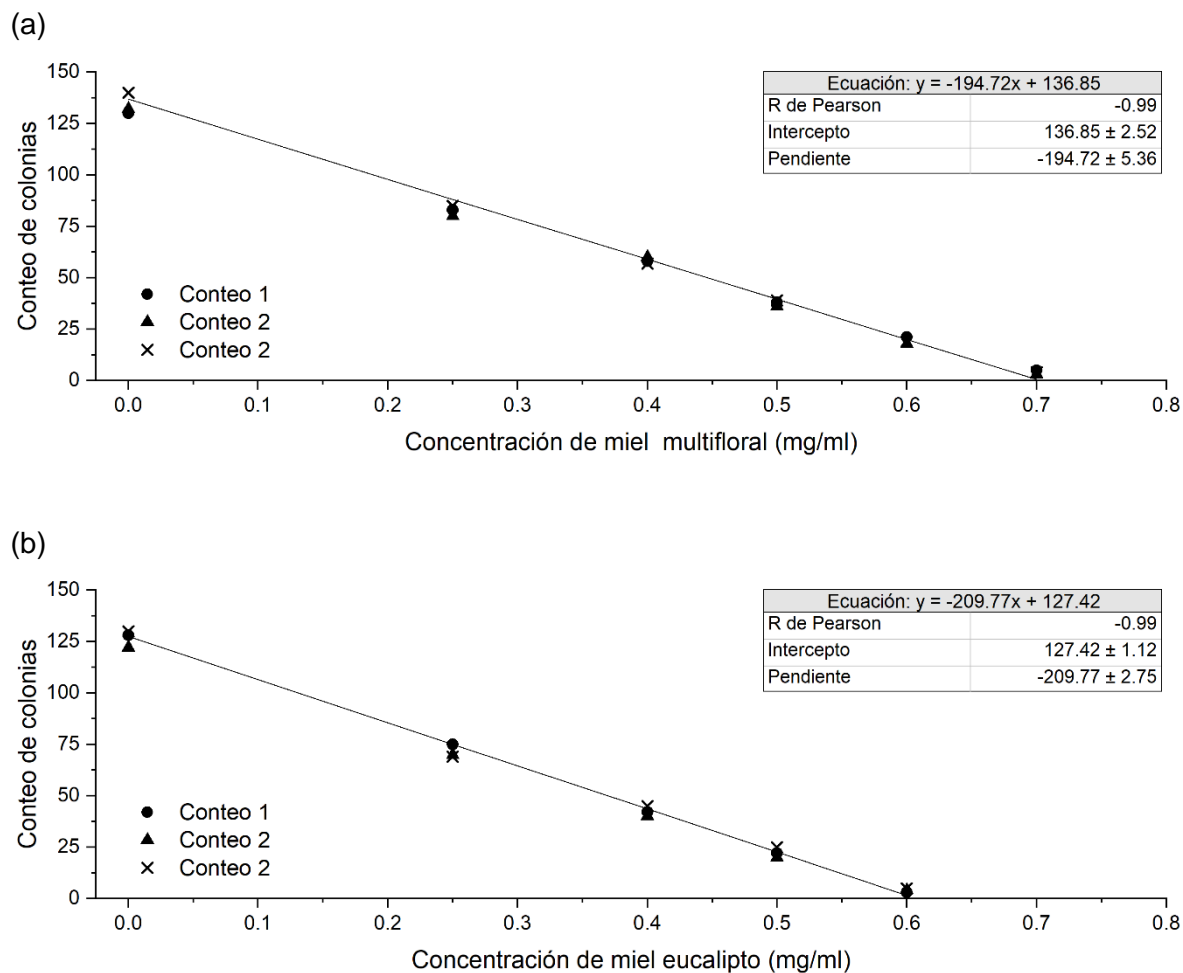
| Concentración (g/ml) | Miel multifloral | | | | | Miel de eucalipto | | | | |
|----------------------------|------------------|---------|---------|------------------|------|-------------------|---------|---------|------------------|------|
| | Colonias | | | $\bar{X} \pm EE$ | DE | Colonias | | | $\bar{X} \pm EE$ | DE |
| | Cont. 1 | Cont. 2 | Cont. 3 | | | Cont. 1 | Cont. 2 | Cont. 3 | | |
| 0.25 | 83 | 80 | 85 | 82.67 ± 1.45 | 2.52 | 75 | 70 | 69 | 71.33 ± 1.86 | 3.21 |
| 0.40 | 58 | 60 | 57 | 58.33 ± 0.88 | 1.53 | 42 | 40 | 45 | 42.33 ± 1.45 | 2.52 |
| 0.50 | 38 | 36 | 39 | 37.67 ± 0.88 | 1.53 | 22 | 20 | 25 | 22.33 ± 1.45 | 2.51 |
| 0.60 | 21 | 18 | 19 | 19.33 ± 0.88 | 1.52 | 3 | 4 | 5 | 4.00 ± 0.58 | 1.00 |
| 0.70 | 5 | 3 | 4 | 4.00 ± 0.58 | 1.00 | 0 | 0 | 0 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 |
| 0.80 | 0 | 0 | 0 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 | 0 | 0 | 0 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 |
| 0.90 | 0 | 0 | 0 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 | 0 | 0 | 0 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 |
| 1.00 | 0 | 0 | 0 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 | 0 | 0 | 0 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 |
| Control (Caldo y bacteria) | 130 | 132 | 140 | 134.00 ± 3.06 | 5.29 | 128 | 122 | 130 | 126.67 ± 2.4 | 4.16 |
| Caldo puro | 0 | 0 | 0 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 | 0 | 0 | 0 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 |

Fuente: Datos estadísticos del estudio

Interpretación

La **Tabla 39** reúne el conteo de colonias de *S. pneumoniae* junto a distintas concentraciones de las mieles de estudio. Se realizaron 3 lecturas para asegurar la confiabilidad de los resultados.

Figura 23: Gráfico de dispersión y línea de tendencia, del conteo de colonias de *S. pneumoniae* junto a diversas concentraciones de (a) miel multifloral y (b) miel de eucalipto.



Fuente: Datos estadísticos del estudio

El **gráfico 23** muestra como diversos grados de concentración de las mieles (a) multifloral y (b) de eucalipto tuvieron influencia sobre la cantidad de colonias de *S. pneumoniae* que lograron desarrollarse sobre agar. En la tabla 27 se observan valores nulos de colonias a partir de una concentración de 0.8 mg/ml para el caso de miel multifloral, y de 0.7 g/ml para el caso de miel de eucalipto. Eso indica que el valor exacto de CMB se encuentre por debajo de estas concentraciones. Para determinar el valor teórico exacto de la concentración a la cual se alcanza la actividad bactericida, se debe reemplazar la variable “y” por un valor de absorbancia igual 0, según la siguiente operación:

Para el caso de la miel multifloral:

$$y = -194.72x + 136.85$$

$$0 = -194.72x + 136.85$$

$$-136.85 = -194.72x$$

$$x = 0.70 \frac{g}{ml}$$

Para el caso de la miel de eucalipto:

$$y = -209.77x + 127.42$$

$$0 = -209.77x + 127.42$$

$$-127.42 = -209.77x$$

$$x = 0.61 \frac{g}{ml}$$

Análisis y discusión

En la investigación de Nagy et al. 2024 (15), se encontró que las muestras de mieles de 4 tipos de especies vegetales (acacia negra, tilo, vara dorada y girasol) recolectados en 3 etapas en los años (2020, 2021 y 2022) y evaluadas frente a cepas de *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pneumoniae*, mostraron una CMB de 0.58, 0.55, 0.5 y 0.5 g/ml para cada tipo de miel recolectados en el año 2020, en tanto que los valores de CBM fueron menores para las mieles con más tiempo de almacenamiento, Estos valores son muy cercanos a los que reportamos para la miel multifloral (0.70 g/ml) y la de eucalipto (0.61 g/ml). La pérdida de integridad de la membrana bacteriana se observó a concentraciones del 0.6 g/ml miel recolectada del año 2020, 0.4 g/ml 2021 y la mayor liberación de material celular se midió para la miel de tilo del año 2022, alcanzando el 0.437 g/ml de miel proporcionando células lisadas para *S. pneumoniae*, se produjo cierta actividad incluso a la baja concentración del 0.2 g/ml. La liberación de ADN de las células bacterianas comenzó a los 20 y 60 min en el caso de la miel de tilo de 2022 y 2020, se infiere que la actividad bactericida disminuye a mayor tiempo de almacenamiento de la miel, según los autores Nagy et al. 2024 (15)

CONCLUSIONES

1. Se recolecto la miel multifloral del valle interandino durante la temporada de lluvias y miel de eucalipto del valle altoandino en temporada seca, así mismo los resultados de control microbiológico son aptos según los estándares del Ministerio de Salud (MINSA), en cuanto a los parámetros fisicoquímicos, ambas muestras cumplen con la mayoría de los estándares establecidos por la Norma técnica peruana (NTP) 209. Para el contenido de polifenoles, la miel de eucalipto tiene una mayor cantidad, mientras que la miel multifloral presentó una mayor cantidad de flavonoides, en la actividad antioxidante, la miel de eucalipto demostró más % de inhibición que la miel multifloral. Respecto a la actividad antibacteriana, ambas mieles presentan actividad antibacteriana contra *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 con variaciones mínimas.
2. La miel de eucalipto se distingue por su menor contenido de hidroximetilfurfural (HMF) y una mayor concentración de glucosa y fructosa, lo que indica una mayor frescura y dulzura por otro lado, la miel multifloral, con un contenido ligeramente mayor de HMF, presenta una acidez más baja y una densidad adecuada, ambas cumplen con los estándares de la Norma Técnica Peruana (NTP) con la excepción de la miel multifloral, con los % de azúcares reductores bajos y esto refleja a su origen floral.
3. Se midió los polifenoles totales para la miel multifloral contiene 27.70 mg EAG/100 g (Equivalente de ácido gálico), así mismo para la miel de eucalipto presenta 44.50 mg EAG/100 g y para los flavonoides totales, la miel multifloral contiene 12.83 mg EQ/100 g (Equivalente a Quercetina), y así mismo la miel de eucalipto presenta 7.97 mg EQ/100 g.
4. Se determino la actividad antioxidante para la miel multifloral y presenta un IC 50 de 3.50 mg ET/100g (Equivalente Trolox) y un porcentaje de inhibición del 46.9%, y para la miel de eucalipto presenta un IC 50 de 2.47 mg ET/100g y un porcentaje de inhibición del 77.9%, con mayor capacidad antioxidante.
5. En la concentración mínima inhibitoria (CMI) la miel multifloral demuestra inhibición a una concentración de 0.5038 g/mL, y la miel de eucalipto a una concentración 0.5078 g/mL. Para la concentración mínima bactericida (CMB) la miel multifloral genero muerte celular a una concentración de 0.70 g/mL, así mismo para la miel de eucalipto logró una CMB de 0.61 g/mL. La miel multifloral y la miel de eucalipto tienen actividad antibacteriana frente a las cepas de *Streptococcus pneumoniae* 49619 respectivamente.

6. Ambos tipos de miel, multifloral y de eucalipto, presentan propiedades, antioxidante y actividad antibacteriana contra *Streptococcus pneumoniae* 49619 con variaciones mínimas.

SUGERENCIA Y RECOMENDACIONES

PARA LA AUTORIDAD UNIVERSITARIA

- Incentivar y aumentar el presupuesto para proyectos de ciencias de la salud, especialmente para la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.

PARA LOS DOCENTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL

- Promover e incentivar a los estudiantes a realizar más estudios e investigaciones en el campo de la salud y los alimentos (nutraceúticos).

RECOMENDACIONES PARA FUTUROS ESTUDIOS E INNOVACIÓN

- Se recomienda realizar estudios clínicos adicionales tanto en mieles de eucalipto como en mieles multiflorales, con el fin de evaluar de manera más detallada sus propiedades terapéuticas y determinar su eficacia en diferentes condiciones de salud, especialmente en el contexto de infecciones bacterianas y su posible papel en la lucha contra la resistencia antimicrobiana.
- Se sugiere investigar la viabilidad de la industrialización de la miel, especialmente para su formulación en presentaciones farmacéuticas y cosméticas, y otros.
- Se sugiere estudios en los aspectos de seguridad y posibles contraindicaciones en el uso prolongado de la miel como tratamiento complementario, asegurando así un enfoque integral para su posible uso en la medicina moderna.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ali AM, Kunugi H. Propolis, Bee Honey, and Their Components Protect against Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review of In Silico, In Vitro, and Clinical Studies. *Molecules*. 2021;26(5).
2. Guzmán Y Valle E, Mater A, Magisterio D, Facultad N, Agropecuaria DE, Nutrición Y. La industria apícola peruana y su futuro. Repositorio Institucional - UNE [Internet]. 2019; Disponible en: <http://repositorio.une.edu.pe/handle/20.500.14039/3768>
3. Muñoz Jáuregui AM, Ortíz Ureta CA, Blanco Blasco T, Castañeda Castañeda B, Alvarado Yarasca Á, Ruiz Quiroz J. Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 31 de diciembre de 2014;80(4):287-97.
4. Marquart ME. Pathogenicity and virulence of *Streptococcus pneumoniae*: Cutting to the chase on proteases. Vol. 12, *Virulence*. Bellwether Publishing, Ltd.; 2021.
5. Savatović SM, Dimitrijević DJ, Djilas SM, Čanadanović-Brunet JM, Četković GS, Tumbas VT, et al. Antioxidant activity of three different serbian floral honeys. *Acta Periódica Tecnológica*. 2011;42:145-55.
6. Almasaudi S. The antibacterial activities of honey. *Saudi J Biol Sci*. 16 de octubre de 2021;28(4):2188-96.
7. Sharifi-Rad M, Anil Kumar N V., Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E, et al. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. Vol. 11, *Frontiers in Physiology*. Frontiers Media S.A.; 2020.
8. Organización Mundial de la Salud. Las 10 principales causas de defunción [Internet]. 2024 dic [citado 27 de agosto de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
9. Luis Revilla tafur. *Boletín Epidemiológico del Perú SE 04-2022*. 2022 ene.
10. Soto Cabezas Gabriela, Vilchez Gutarra Aquiles, et al. Situación epidemiológica de la neumonía bacteriana en el Perú, a la SE 32 - 2023. Lima; 2023.
11. Delgado Suarez E j., et al. Plan de acción mundial sobre la resistencia 2015. En: *Resistencia a los antimicrobianos: herramientas tecnológicas de vanguardia para su*

- vigilancia [Internet]. Mexico: OMS, FAO y OIE; 2020 [citado 13 de marzo de 2024]. Disponible en: https://campus.paho.org/mooc/mod/scorm/player.php?a=746¤torg=H5P_Author&scoid=1894
12. González Novelo Sara A., Tamayo Cortez Jorge A., Toledo López Victor M., Tamayo Canul Elsy N, et al. Productos con alto contenido de miel, como opción para incrementar su uso en Yucatán. *Revista Mexicana de Agronegocios*. 2013;33:576-86.
 13. Martínez F. Francisco, Cobo O. Antonio. *Apuntes de apicultura*. PAO. Dirección general de investigaciones y extensiones agrarias, editor. Sevilla; 2006. 1-134 p.
 14. Sánchez Eduardo. Emprendedora crea productos de cuidado personal con miel de abeja. esanchez@larepublica.net [Internet]. 28 de febrero de 2017 [citado 13 de octubre de 2024];1-2. Disponible en: <https://www.larepublica.net/noticia/emprendedora-crea-productos-de-cuidado-personal-con-miel-de-abeja>
 15. Nagy-Radványi L, Balázs VL, Kocsis B, Csikós E, Ángyán VD, Szabó P, et al. Antibacterial activity of Hungarian varietal honeys against respiratory pathogens as a function of storage time. *Sci Rep*. 2024;14(1):10200.
 16. Yayinie M, Atlabachew M, Tesfaye A, Hilluf W, Reta C, Alemneh T. Polyphenols, flavonoids, and antioxidant content of honey coupled with chemometric method: geographical origin classification from Amhara region, Ethiopia. *Int J Food Prop*. 2022;25(1):76-92.
 17. Balázs VL, Nagy-Radványi L, Filep R, Kerekes E, Kocsis B, Kocsis M, et al. In Vitro Antibacterial and Antibiofilm Activity of Hungarian Honeys against Respiratory Tract Bacteria. *Foods*. 2021;10(7):1632.
 18. Pauliuc D, Dranca F, Oroian M. Antioxidant Activity, Total Phenolic Content, Individual Phenolics and Physicochemical Parameters Suitability for Romanian Honey Authentication. *Foods*. 2020;9(3):306.
 19. Coronado-Jorge MF, Silva-Cruz A, Ormeño-Luna J, Terleira-García E, Martínez-Mena E, Vidaurre-Rojas P. Physicochemical characterization of honey bee (*Apis mellifera* L.) from the Peruvian Amazon region. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences*. 2022;17(4):1-7.

20. Adrianzén Ramírez J, García Caballero V. Efecto in vitro de la miel de *Apis mellifera* frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans*. [Trujillo]: UNITRU; 2018.
21. Vásquez Cárdenas E. Obtención de galleta integral con incorporación parcial de chía negra triturada (salvia hispánica L.), miel de abeja (*Apis mellifera* L.) y sacarosa. [Cusco]: UNSAAC; 2016.
22. Polaino Jiménez C. Manual práctico del apicultor. Madrid : Cultural. Vol. 265. Madrid: Cultural; 2006. 46-84 p.
23. Romero Quispe A. Caracterización de mieles de abeja (*Apis mellifera* Lin) en bosques secundarios de 6 localidades de coronel portillo, Ucayali. 2017.
24. Juan Ramon Silva. Manual de practica de apicultura. Manual de Practicas. Vol. 1. Tuxpan Veracruz: Universidad Veracruzana; 2015. 1-31 p.
25. La anatomía de las abejas melíferas. Arizona State University (ASU) [Internet]. 12 de abril de 2023 [citado 14 de mayo de 2024]; Disponible en: <https://askabiologist.asu.edu/anatom%C3%ADa-de-abejas-mel%C3%ADferas>
26. Quero Martinez Ana. Las abejas y la apicultura. Asturias España: Universidad de Oviedo; 2004.
27. Yuca Rivas Raúl. Análisis polínico de las mieles producidas en dos localidades del Valle Sagrado de los Incas (Cusco, Perú). [Tesis pregrado]. [Cusco]: Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco; 2016.
28. Ajibola A, Chamunorwa JP, Erlwanger KH. Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutrition y Metabolism*. 2018;1-12.
29. Romero Quispe A. Caracterización de mieles de abeja (*Apis mellifera* Lin) en bosques secundarios de 6 localidades de coronel portillo, Ucayali [Tesis pregrado]. [Lima]: Universidad Nacional Agraria la Molina; 2017.
30. Cianciosi D, Forbes-Hernández T, Afrin S, Gasparrini M, Reboredo-Rodriguez P, Manna P, et al. Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: A Review. *Molecules*. septiembre de 2018;23(9):2322.
31. Palacios Colón Laura. Determinación de la capacidad antioxidante de bayas y frutos del bosque [tesis pregrado]. [Andalucía]: Universidad de Jaen; 2017.

32. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic Biol Med* [Internet]. 12 de diciembre de 2010 [citado 8 de septiembre de 2024];49(11):1603. Disponible en: [/pmc/articles/PMC2990475/](#)
33. Delgado Olivares L, Cabrera B, Martínez S, Teresa M. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investig Cienc.* 15 de diciembre de 2010;18:1-7.
34. Baldim JL, Alcantara BGV De, Domingos ODS, Soares MG, Caldas IS, Novaes RD, et al. The Correlation between Chemical Structures and Antioxidant, Prooxidant, and Antitrypanosomatid Properties of Flavonoids. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:3789856.
35. Martinez Valverde I., Jesus Periago M., Gaspar Ros. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Sociedad Latinoamericanos de Nutrición* . 2 de marzo de 2000;50(1).
36. Peñarrieta JM, Tejeda L, Mollinedo P, Vila JL, Bravo JA. phenolic compounds in food. *Bolivian Journal of Chemistry.* 2014;31(2):68-81.
37. Grootveld M, Halliwell B. Aromatic hydroxylation as a potential measure of hydroxyl-radical formation in vivo [Internet]. Vol. 237, *Biochem. J. London U.K.*; 1986 [citado 13 de septiembre de 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1147012/>
38. Martínez AM. *Química de Productos Naturales.* Vol. 410. Medellín Colombia: Universidad de Antioquia; 2020.
39. Granado Serrano Belén A. Estudio de los mecanismos de acción molecular de polifenoles de la dieta en cultivos celulares y animales de experimentación [tesis pregrado]. [Madrid]: Universidad Complutense de Madrid; 2010.
40. Ulloa Castañeda BV. Efecto Antibacteriano de la miel de abeja contra Cepas de *Pseudomonas Aeruginosa* Comparado Con Ceftazidima, In Vitro [Tesis pregrado]. Universidad César Vallejo. Trujillo; 2018.
41. Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia.* 28 de enero de 2011;82(4):513-23.

42. Cartaya O, Reynaldo I. Flavonoides: características químicas y aplicaciones. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. 2001;22(0258-5936):5-14.
43. Trueba PG. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Cubana Invest Biomed . 4 de diciembre de 2003;22(1):48-57.
44. Frontela C, Canali R, Virgili F. Empleo de compuestos fenólicos en la dieta para modular la respuesta inflamatoria intestinal. Gastroenterol Hepatol. abril de 2010;33(4):307-12.
45. Pérez M, Dominguez-López I, Lamuela-Raventós RM. The Chemistry Behind the Folin-Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. Vol. 71, Journal of Agricultural and Food Chemistry. American Chemical Society; 2023. p. 17543-53.
46. Magalhães LM, Almeida MIGS, Barreiros L, Reis S, Segundo MA. Automatic Aluminum Chloride Method for Routine Estimation of Total Flavonoids in Red Wines and Teas. Food Anal Methods. junio de 2012;5(3):530-9.
47. Ibarra Estrada E, Pacheco Sánchez M, Mateos RG, San R, Chávez M, Valverde GR, et al. Actividad antioxidante de alcaloides de Erythrina americana Miller. Revista fitotecnología. 12 de enero de 2011;34(4):214-46.
48. Ministerio de Salud (MINSa) - Perú. NTS 071-MINSa/DIGESA «Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano». 2008.
49. Ministerio de Salud (MINSa) - Perú. Resolución Ministerial 591-1998-MINSa - Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano -. 2008.
50. Yáñez RX, Mogollón Omar Fernando. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies Eucalyptus globulus y E. camaldulensis de tres zonas de Pamplona (Colombia). Revista de la Facultad de Ciencias Básicas. 2012;10(1):52-61.
51. Cosima C., Petry J, Griesbaum L, Weiser T, Werner K, Ploch M, et al. 1,8-cineole (eucalyptol): A versatile phytochemical with therapeutic applications across multiple diseases. Biomedicine and Pharmacotherapy. 1 de noviembre de 2023;167:1-16.

52. Barnett TC, Cole JN, Rivera-Hernandez T, Henningham A, Paton JC, Nizet V, et al. Streptococcal toxins: Role in pathogenesis and disease. *Cell Microbiol.* 1 de diciembre de 2015;17(12):1721-41.
53. Mietzner TA., Carroll KC., Hobden JA., Miller Steve, Morse SA., Mitchell TG., et al. Jawetz, Melnick & Adelberg Microbiología médica. McGraw-Hill Education; 2016. 850 p.
54. Marquart ME. Pathogenicity and virulence of *Streptococcus pneumoniae*: Cutting to the chase on proteases. *Virulence* [Internet]. 2021 [citado 21 de agosto de 2024];12(1):766. Disponible en: /pmc/articles/PMC7939560/
55. Gonzales Vivanco Angel Alberto. Guía de práctica clínica para diagnóstico y tratamiento de neumonía en las niñas y los niños. R.M. N° 1041-2019/MINSA. Lima; 2019 nov.
56. Goodman Gilman Alfred. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Decimotercera. Vol. 13. Mexico: McGrawHill; 2013. 1-1441 p.
57. Nau Cornelissen Cynthia, Metzgar Hobbs Marcia. Microbiología. Wolters Kluwer. Vol. 900. España; 2016.
58. Ministerio del ambiente. Mapa nacional de ecosistemas del Perú. Vol. 1. Lima Peru; 2019. 1-124 p.
59. del Pozo Eduardo, Schopflocher Roberto. Cria de abejas. Ciceron. Vol. 5. Buenos Aires: Albatros; 2013. 1-190 p.
60. Miel de eucalipto: beneficios y propiedades [Internet]. Natursan. Disponible en: <https://www.natursan.net/miel-de-eucalipto-beneficios-y-propiedades/>
61. Pryor LD. Cubierta: Rodal natural mixto de eucalipto, Tasmania.
62. Mamani Guarachi Pablo Victor. Caracterización dendrológica y morfológica de semillas de tres especies forestales: eucalipto (*eucalyptus globulus*), cipres (*cupressus macrocarpa*) y acacia floribunda (*acacia retinoides*) [Tesis pregrado]. [La Paz]: Universidad Mayor de San Andres; 2014.
63. Alós JI. Resistencia bacteriana a los antibióticos: Crisis global. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2015;33(10). Disponible en: <https://sci-hub.se/https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25475657/>

64. Cruz Justiniani Silvia C. Factores asociados a la susceptibilidad antimicrobiana de *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii* frente al uso de antibióticos de reserva en pacientes con neumonía intrahospitalaria en el hospital nacional Adolfo Guevara Velasco ESSALUD Cusco enero-junio 2020-2021. 2022
65. La resistencia antimicrobiana pone en riesgo la salud mundial - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/3-3-2021-resistencia-antimicrobiana-pone-riesgo-salud-mundial>
66. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades –MINSA Hasta la SE 11 -2023. Peru; 2023.
67. Collins W, Lowen N, Blake DJ. Caffeic Acid Esters Are Effective Bactericidal Compounds Against *Paenibacillus* larvae by Altering Intracellular Oxidant and Antioxidant Levels. *Biomolecules*. 2019;9(8):312.
68. Calderon Diaz Vicente, del Rosario Pascual Anderson. *Microbiología Alimentaria*. 2da ed. Diaz de Santo S.A. Juan, editor. Vol. 1. Madrid; 2000. 26-460 p.
69. INDECOPI. Norma Técnica Peruana (NTP 209.171). MIEL - Determinación del contenido de humedad. 1999.
70. INDECOPI. Norma Técnica Peruana (NTP 209.176). MIEL - Determinación de hidroximetilfurfural (HMF). 1999.
71. Navarro MV, Navarro PV, Cobo Wajer S, Dolores Maand Bernal R, Serrano M. Determinación de hidroximetilfurfural en mieles como parámetro indicador de la calidad de las mismas 2015.
72. INDECOPI. Norma Técnica Peruana (NTP 209.172). MIEL - Determinación del contenido de azúcar reductor. 1999.
73. Rodriguez-Maturino A, Troncoso-Rojas R, Sánchez-Estrada A, González-Mendoza D, Ruiz-Sanchez E, Zamora-Bustillos R, et al. Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum*. *Rev Argent Microbiol*. 2015;47(1):72-7.
74. Best I. Hongos comestibles y su impacto sobre nutrición y salud. En: 1.a ed. Lima: ibest@usil.edu.pe; 2022. p. 40-75.

75. Weinstein MP, Lewis James S., et al. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30.a ed. Vol. 40. Estados Unidos USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020. 282 p.
76. Programa de Vigilancia de los Serotipos y Resistencia Antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. Organización Panamericana de la Salud 2004 p. 1-177.
77. Procedimientos para el diagnóstico de Neumonías y Meningitis Bacterianas y la caracterización de cepas de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, SIREVA II. Organización Panamericana de la Salud 2012 p. 1-121.
78. Guerri Gerico Angela. Caracterización microbiológica de muestras de miel procedentes de Mozambique [Tesis pregrado]. [Valencia]: Universidad Politécnica de Valencia; 2022.
79. INDECOPI. Norma Técnica Peruana (NTP 209.175). MIEL - Determinación del contenido de sustancias minerales (cenizas). Lima; 1999.
80. Maza Izquierdo JA. Caracterización físico-química y determinación del perfil polifenólico de miel de abeja (*Apis mellifera* L.) en tres zonas de la región San Martín. 2021.
81. Sancho Valls J, de Castro Martín JJ, Bota Prieto E. Introducción al análisis sensorial de los alimentos. Barcelona: Edicions Universitat Barcelona; 199d. C.
82. Felsner ML, Cano CB, Matos JR, de Almeida-Muradian LB, Bruns RE. Optimization of thermogravimetric analysis of ash content in honey. *J Braz Chem Soc.* diciembre de 2004;15(6):797-802.
83. Mairaj G, Akhtar S, Riaz Khan A, Ullah Z, Bibi S, Ali S. Quality Evaluation of Different Honey Samples Produced in Peshawar Valley. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* 2008;11(5):797-800.
84. INDECOPI. Norma Técnica Peruana (NTP 209.168). MIEL - Definiciones, requisitos y rotulado. 1999.
85. Oroian M. Measurement, prediction and correlation of density, viscosity, surface tension and ultrasonic velocity of different honey types at different temperatures. *J Food Eng.* 2013;119(1):167-72.

86. Nzeh J, Quansah L, Dufailu OA. Physicochemical properties of imported and locally produced honey did not translate into its microbial quality and antibacterial activity. *Discover Food*. 2022;2(1).
87. Abera T, Alemu T. Physico-chemical characteristics of honey produced from northeastern Ethiopia. *Heliyon*. 2023;9(2).
88. Raweh HSA, Badjah-Hadj-Ahmed AY, Iqbal J, Alqarni AS. Physicochemical Composition of Local and Imported Honeys Associated with Quality Standards. *Foods*. 2023;12(11).
89. Shapla UM, Solayman Md, Alam N, Khalil Mdl, Gan SH. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chem Cent J*. 2018;12(1):35.
90. Damto T. A Review on Effect of Adulteration on Honey Properties. *SSRN Electronic Journal*. 2019;
91. Rybak-Chmielewska H. High performance liquid chromatography (HPLC) study of sugar composition in some kinds of natural honey and winter stores processed by bees from starch syrup. *J Apic Sci*. 2007;51(1).
92. García Pérez A. *Estadística aplicada avanzada con R*. Madrid: Editorial UNED; 2022. 436 p.
93. Hernández-Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio M del P. *Metodología de la Investigación*. 6ta Ed. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana; 2014. 305-306 p.
94. Suleiman MHA, ALaerjani WMA, Mohammed MEA. Influence of altitudinal variation on the total phenolic and flavonoid content of Acacia and Ziziphus honey. *Int J Food Prop*. 2020;23(1):2077-86.
95. Molole GJ, Gure A, Abdissa N. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Commiphora mollis* (Oliv.) Engl. resin. *BMC Chem*. 2022;16(1):48.
96. Karabagias IK, Maia M, Karabagias VK, Gatzias I, Badeka A V. Quality and origin characterisation of Portuguese, Greek, Oceanian, and Asian honey, based on poly-parametric analysis hand in hand with dimension reduction and classification techniques. *European Food Research and Technology*. 2020;246(5):987-1006.

97. Dżugan M, Tomczyk M, Sowa P, Grabek-Lejko D. Antioxidant Activity as Biomarker of Honey Variety. *Molecules*. 2018;23(8):2069.
98. Ciappini MC, Stoppani FS. Determination of Antioxidant Capacity, Flavonoids, and Total Phenolic Content in Eucalyptus and Clover Honeys. *J Apic Sci*. 2014;58(1):103-11.
99. Akbari E, Baigbabaei A, Shahidi M. Determination of the floral origin of honey based on its phenolic profile and physicochemical properties coupled with chemometrics. *Int J Food Prop*. 2020;23(1):506-19.
100. Mendoza-Bacilio CI, Epifanio-Gómez R, Yam-Puc A, Avila-Caballero LP. Color influence on phenolic compounds and bioactive properties of honey from Guerrero, Mexico. 2022.
101. Olszowy-Tomczyk M. How to express the antioxidant properties of substances properly? *Chemical Papers*. 2021;75(12):6157-67.
102. Mutha RE, Tatiya AU, Surana SJ. Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: an overview. *Futur J Pharm Sci*. 2021;7(1):25.
103. Kumar M, Verma S, Sharma S, Srinivasan A, Singh TP, Kaur P. Structure-Based In silico Design of a High-Affinity Dipeptide Inhibitor for Novel Protein Drug Target Shikimate Kinase of *Mycobacterium tuberculosis*. *Chem Biol Drug Des*. 2010;76(3):277-84.

ANEXOS

Anexo N° 1: Ficha de monitoreo y recolección de la miel de abeja

Departamento:

Provincia:

Localidad:

Fecha: / /

| | | | | | | | |
|-----------------------------------|---|---|---|---|--|-------------------------------------|-------------------------------|
| Nombre del productor. | | | | | | | |
| Fecha de nacimiento | | | | | Edad | | |
| Grados de estudio | | | | | Años dedicados a la actividad | | |
| N° de apiarios y colmenas | 1er colmena | 2do colmena | 3er colmena | 4to colmena | 5to colmena | 6to colmena | 7mo colmena |
| | | | | | | | |
| Condiciones en que se encuentran | | | | | | | |
| Ubicación de o los apiarios | | | | | | | |
| Fecha de la última visita | | | | | | | |
| Método de extracción | | | | | | | |
| Meses de cosecha de miel | | | | | | | |
| Producción de miel kg | | | | | | | |
| ¿Hace cambio de Reyna? | SI | | | | | | |
| | NO | | | | | | |
| SANIDAD | | | | | | | |
| ¿Cada cuando revisa sus colmenas? | Que enfermedad es han presentado sus colmenas | ¿Como evita que sus colmenas se enfermen? | ¿Qué hacen cuando sus colmenas se enferman? (tratamiento) | ¿Cuáles son las y depredadores que acatan a sus abejas? | Como evita que esas plagas y/o depredador es ataquen sus colonias? | ¿Qué fechas se enferman aproximado? | que hacen cuando se enferman? |
| | | | | | | | |

Fuente: Elaboración propia de acuerdo con los autores

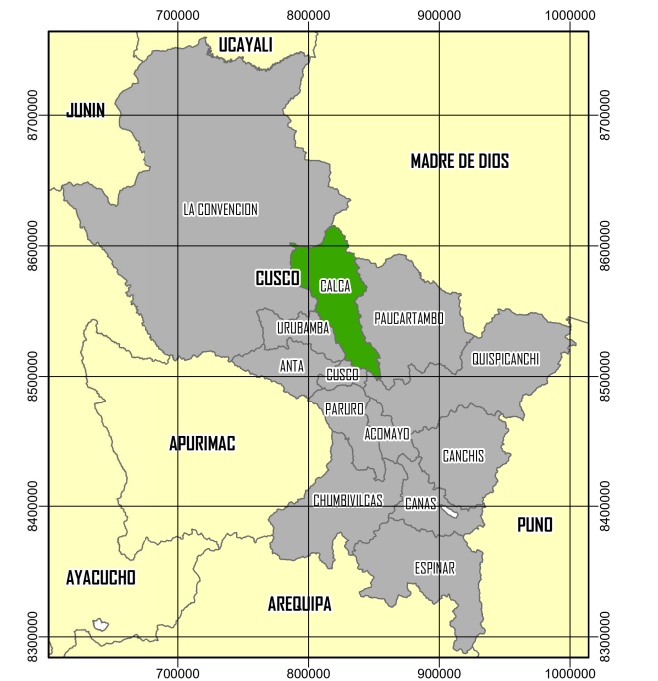
ANEXO N°2 Mapa de ubicación de los apicultores de la miel de abeja multiflora del centro poblado de Huarán Calca-Cusco y Mapa de monitoreo de la miel de abeja multiflora del centro poblado de Chacán ANTA-CUSCO

MAPA DE UBICACION DE LA COLMENA DE ABEJA EN EL CENTRO POBLADO DE HUARAN, DISTRITO CALCA, PROVINCIA DE CALCA, DEPARTAMENTO DE CUSCO

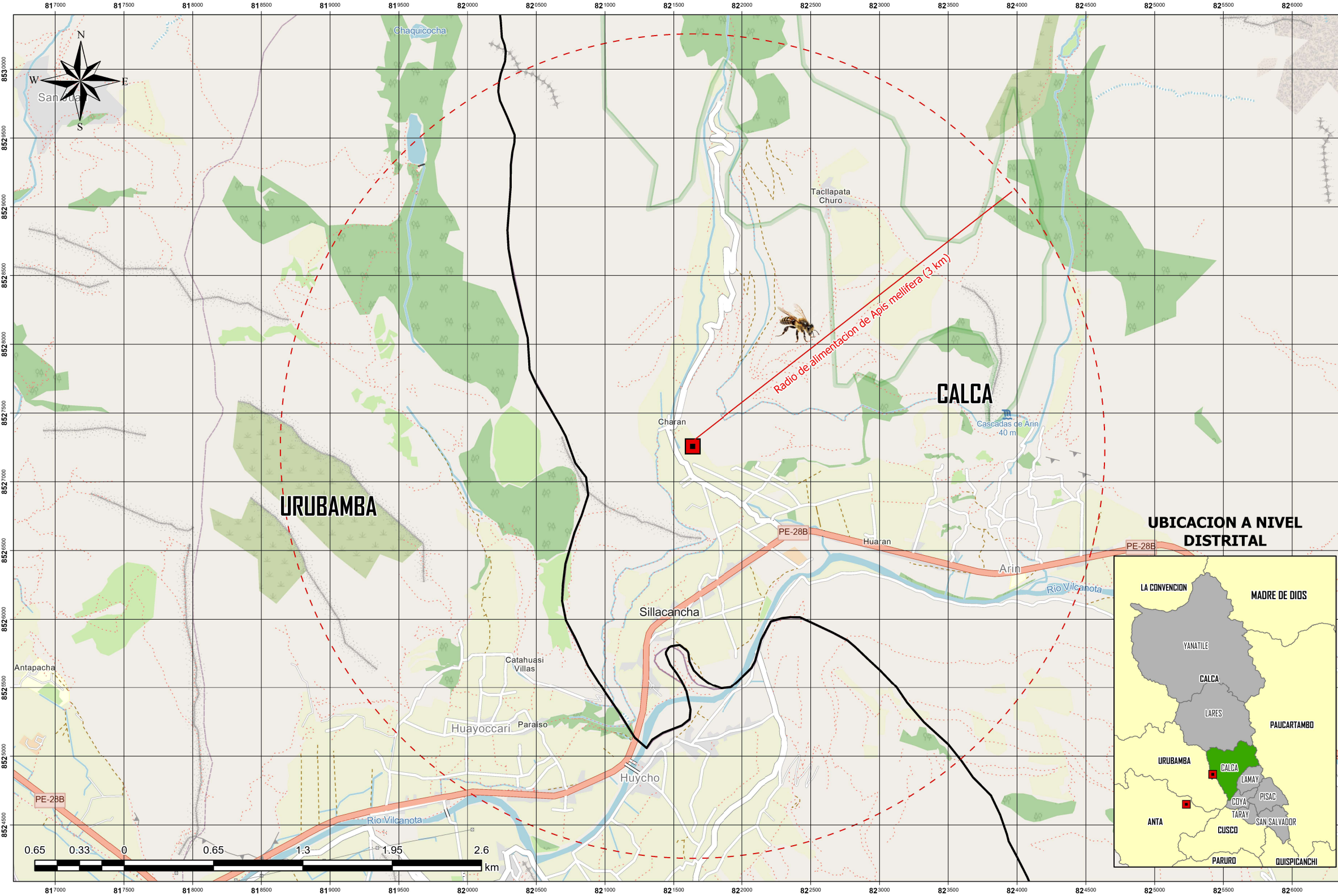
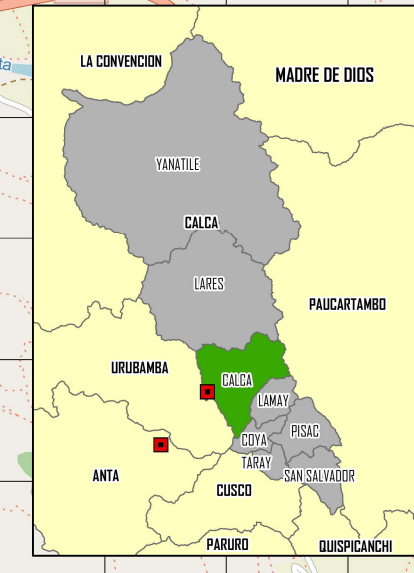
UBICACION A NIVEL DEPARTAMENTAL



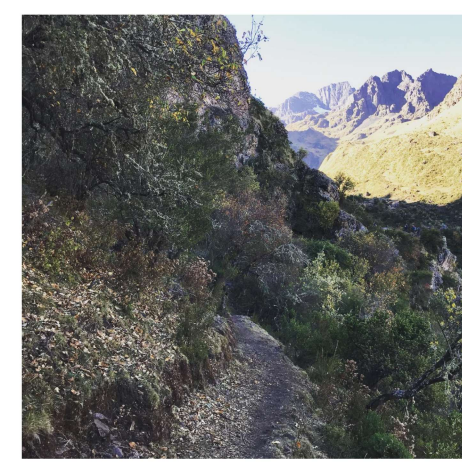
UBICACION A NIVEL PROVINCIAL




UBICACION A NIVEL DISTRITAL




| LEYENDA | | | |
|---------|-----------------------------|--|--------------------|
| | Colmena | | Límite distrital |
| | Autopista | | Césped · Pradera |
| | Pista | | Tierras de cultivo |
| | Vía peatonal | | Matorral |
| | Tren Ligero | | Roca desnuda |
| | Límite administrativo | | Reserva natural |
| | Cuerpo de agua intermitente | | Lago · Embalse |
| | Arrecife | | |
| | Bosque · Bosque maderable | | |



MATORRAL ANDINO EN LA LOCALIDAD DE HUARAN



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABADEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA EN MUESTRAS DE MIEL DE ABEJA (*Apis mellifera*) MULTIFLORAL DE HUARÁN CALCA Y DE LA MIEL DE EUCALIPTO DE CHACAN ANTA, CUSCO 2023.

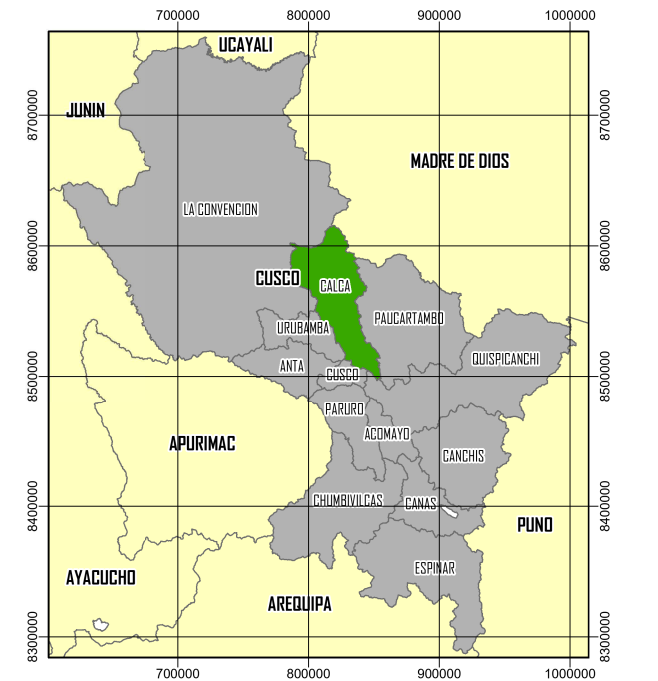
| MAPA: UBICACIÓN DE LA LOCALIDAD DE HUARAN | | |
|---|------------|--|
| UBICACIÓN: | | |
| Centro Poblado: | Huaran | FUENTE: |
| Distrito: | Calca | Open Street Map |
| Provincia: | Calca | Mapa de Ecosistemas del Peru - MINAM, 2018 |
| Region: | Cusco | Instituto Geografico Nacional (IGN) |
| Proyeccion: | UTM | Datum: |
| | WGS84 | Zona: |
| | | 18 S |
| Fecha: | julio 2023 | TESISTAS: |
| | | Bachiller Isaura Achahui Chuctaya |
| | | bachiller Alexander Quispe Huaman |

MAPA DE ECOSISTEMAS DE LA COLMENA DE ABEJA EN EL CENTRO POBLADO DE HUARAN, DISTRITO CALCA, PROVINCIA DE CALCA, DEPARTAMENTO DE CUSCO

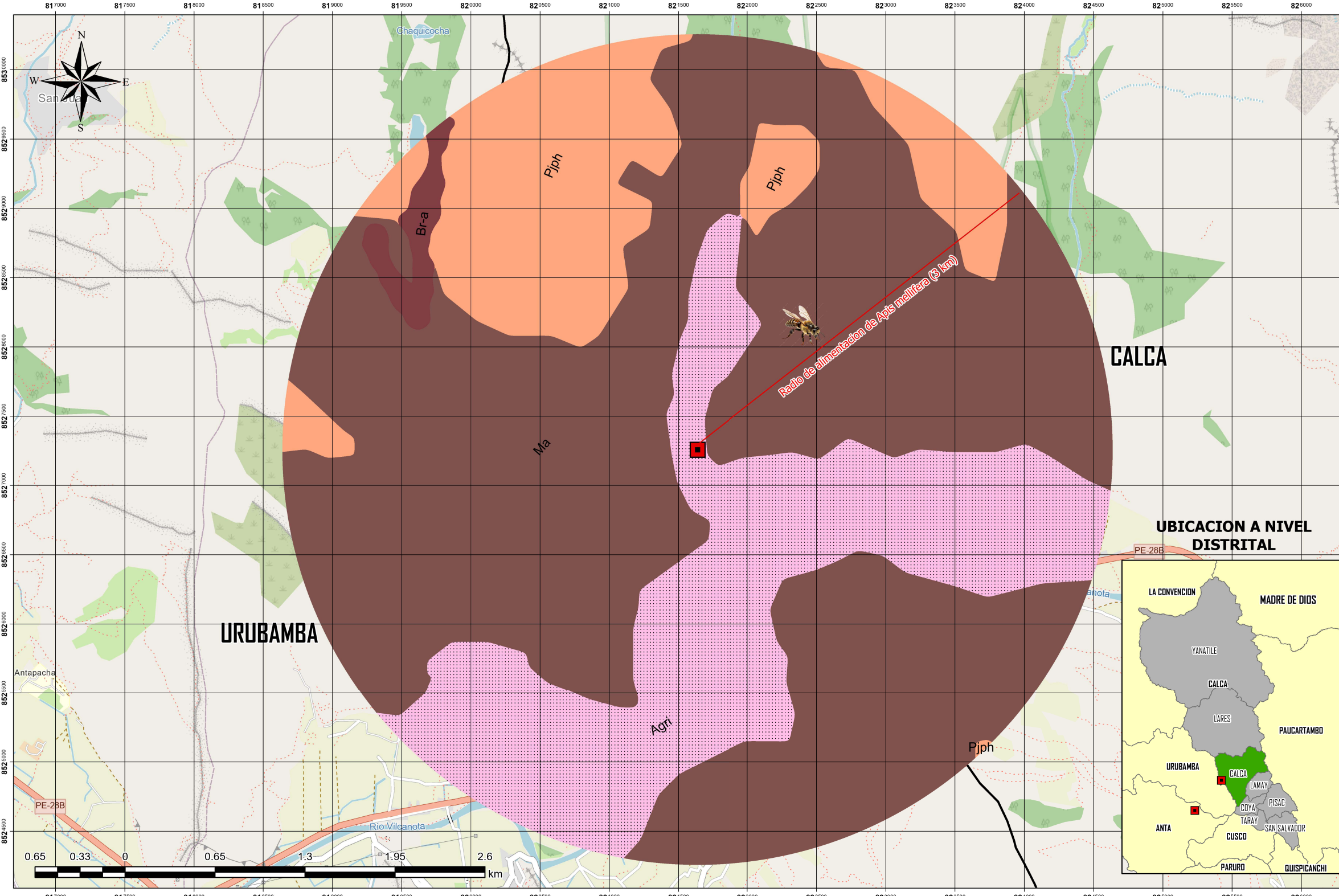
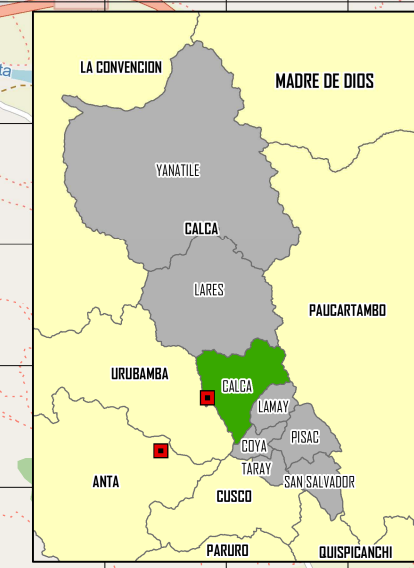
UBICACION A NIVEL DEPARTAMENTAL



UBICACION A NIVEL PROVINCIAL



UBICACION A NIVEL DISTRITAL



LEYENDA

- Colmena
- Límite de la Colmena
- Límite distrital
- Autopista
- Cuerpo de agua intermitente
- Césped · Pradera
- Pista
- Arrecife
- Tierras de cultivo
- Vía peatonal
- Bosque · Bosque maderable
- Matorral
- Tren Ligero
- Lago · Embalse
- Roca desnuda
- Límite administrativo
- Reserva natural

ECOSISTEMAS

- Bosque relicto altoandino (Br - a)
- Matorral andino (Ma)
- Pajonal de puna húmeda (Pjph)
- Zona agrícola (Agri)

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABADEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA EN MUESTRAS DE MIEL DE ABEJA (*Apis mellifera*) MULTIFLORAL DE HUARÁN CALCA Y DE LA MIEL DE EUCALIPTO DE CHACAN ANTA, CUSCO 2023.

MAPA: ECOSISTEMAS DEL AREA DE INFLUENCIA - HUARAN

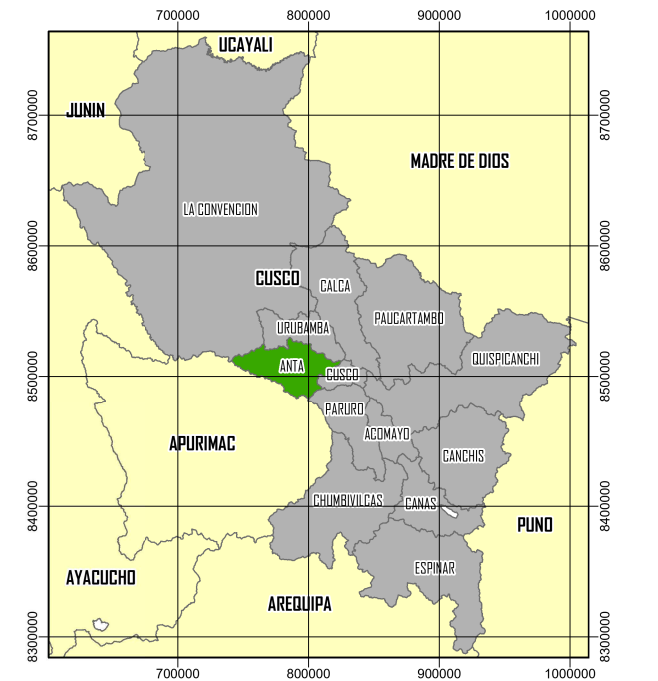
| | | |
|--------------------------|---------------------|--|
| UBICACIÓN: | | FUENTE: |
| Centro Poblado: | Huaran | Open Street Map |
| Distrito: | Calca | Mapa de Ecosistemas del Peru - MINAM, 2018 |
| Provincia: | Calca | Instituto Geografico Nacional (IGN) |
| Region: | Cusco | |
| Proyeccion: UTM | Datum: WGS84 | Zona: 18 S |
| Fecha: julio 2023 | | TESISTAS: |
| | | Bachiller Isaura Achahui Chuctaya bachiller Alexander Quispe Huaman |

MAPA DE UBICACION DE LA COLMENA DE ABEJA EN EL CENTRO POBLADO DE CHACAN, DISTRITO ANTA, PROVINCIA DE ANTA, DEPARTAMENTO DE CUSCO

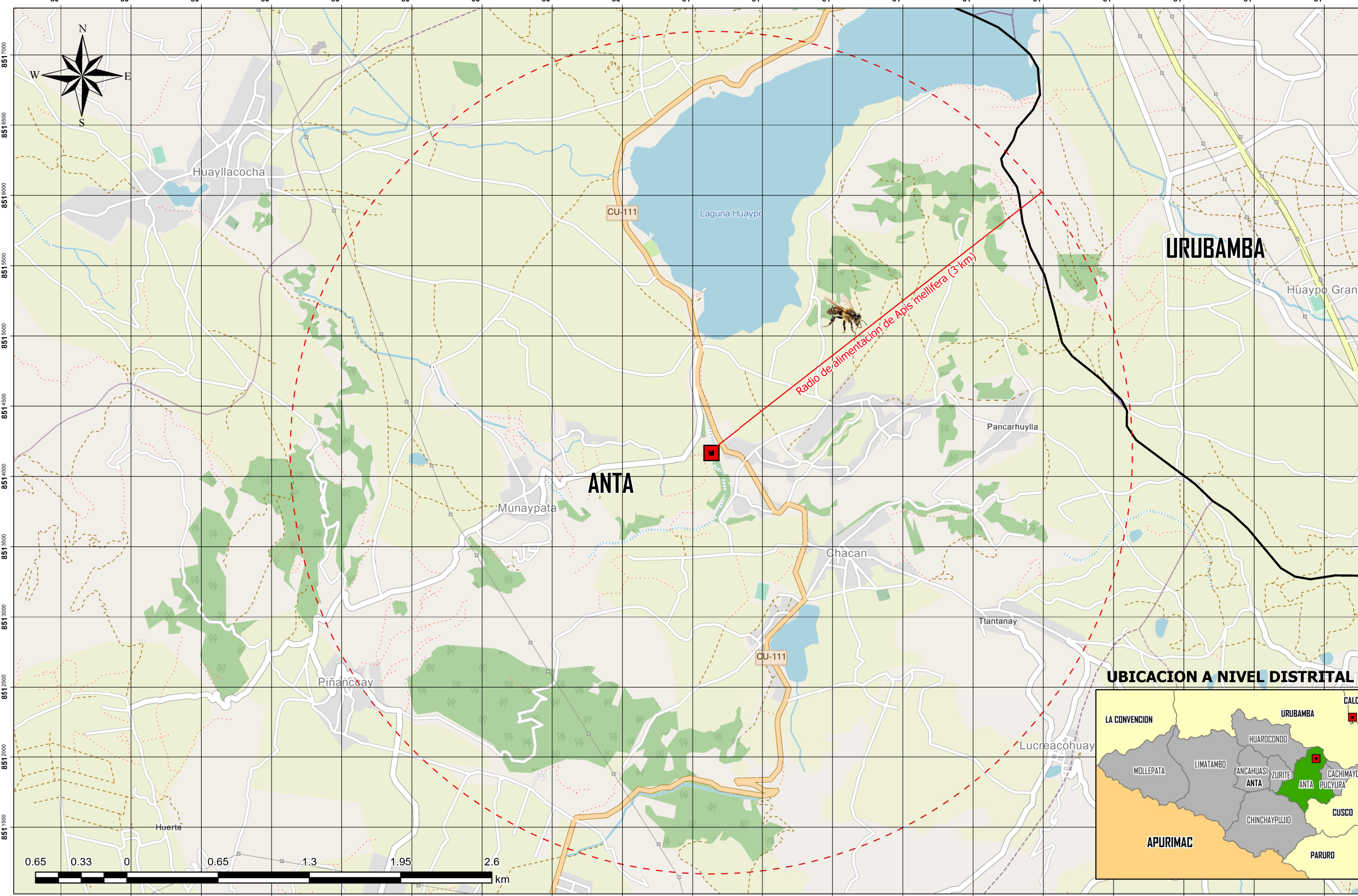
UBICACION A NIVEL DEPARTAMENTAL



UBICACION A NIVEL PROVINCIAL



UBICACION A NIVEL DISTRITAL



LEYENDA

- Colmena
- Límite de la Colmena
- Límite distrital
- Autopista
- Cuerpo de agua intermitente
- Césped · Pradera
- Pista
- Arrecife
- Tierras de cultivo
- Vía peatonal
- Bosque · Bosque maderable
- Matorral
- Tren Ligero
- Bosque maderable
- Roca desnuda
- Límite administrativo
- Lago · Embalse
- Reserva natural



UBICACION DE LAS COLMENAS DE ABEJA, EN LA PARTE DE ATRAS SE MUESTRA ARBOLES DE *Eucalyptus globulus*

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA EN MUESTRAS DE MIEL DE ABEJA (*Apis mellifera*) MULTIFLORAL DE HUARÁN CALCA Y DE LA MIEL DE EUCALIPTO DE CHACAN ANTA, CUSCO 2023.

MAPA: UBICACIÓN DE LA LOCALIDAD DE CHACAN

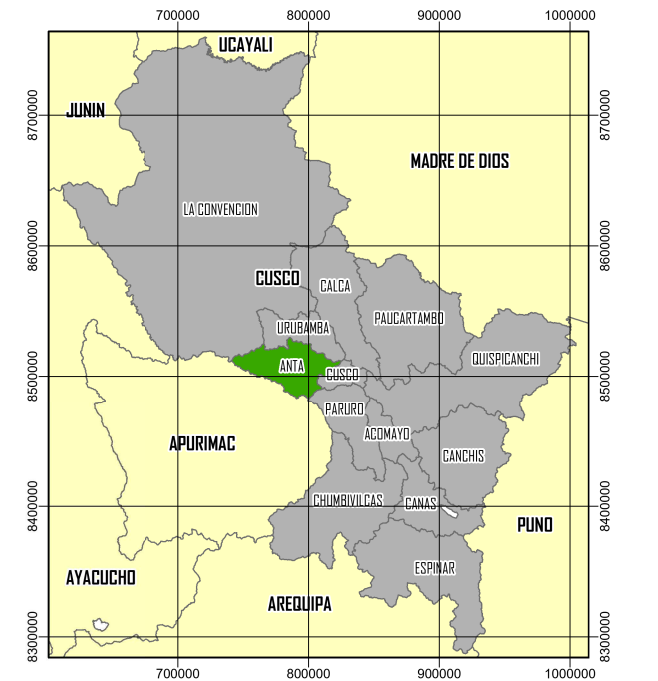
| | | |
|------------------------|---------------------|--|
| UBICACIÓN: | | FUENTE: |
| Centro Poblado: | Chacan | Open Street Map |
| Distrito: | Anta | Instituto Geografico Nacional (IGN) |
| Provincia: | Anta | |
| Region: | Cusco | Zona: 18 S |
| Proyeccion: UTM | Datum: WGS84 | |
| Fecha: | julio 2023 | TESISTAS: Bachiller Isaura Achahui Chuctaya bachiller Alexander Quispe Huaman |

MAPA DE UBICACION DE LA COLMENA DE ABEJA EN EL CENTRO POBLADO DE CHACAN, DISTRITO ANTA, PROVINCIA DE ANTA, DEPARTAMENTO DE CUSCO

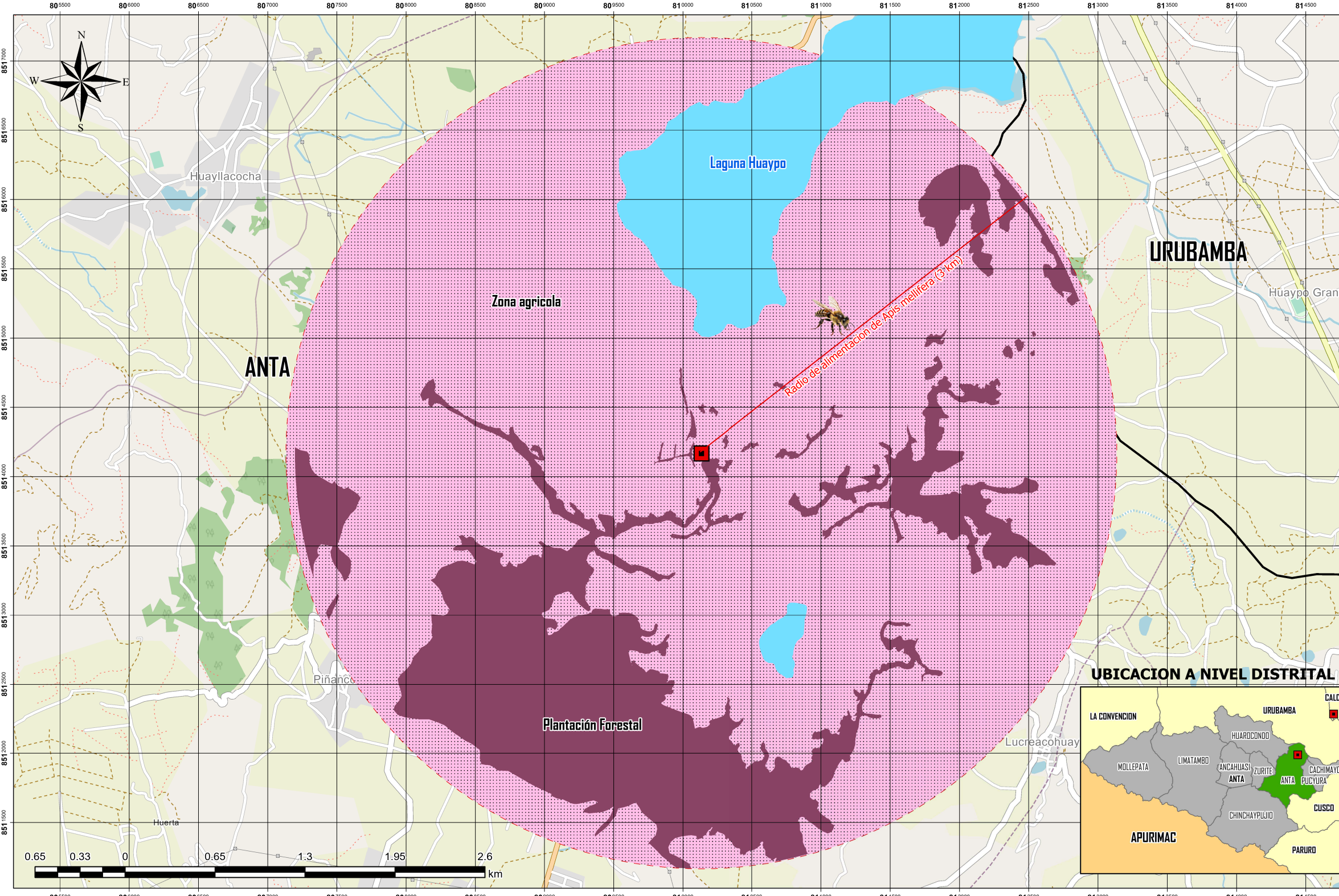
UBICACION A NIVEL DEPARTAMENTAL



UBICACION A NIVEL PROVINCIAL



UBICACION A NIVEL DISTRITAL



LEYENDA

- Colmena
- Límite de la Colmena
- Límite distrital
- Autopista
- Cuerpo de agua intermitente
- Césped · Pradera
- Pista
- Arrecife
- Tierras de cultivo
- Vía peatonal
- Bosque · Bosque maderable
- Matorral
- Tren Ligero
- Lago · Embalse
- Roca desnuda
- Límite administrativo
- Reserva natural

ECOSISTEMAS

- Plantación forestal (Pf)
- Zona agrícola (Agri)
- Laguna (L)



UBICACION DE LAS COLMENAS DE ABEJA, EN LA PARTE DE ATRAS SE MUESTRA ARBOLES DE *Eucalyptus globulus*

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA EN MUESTRAS DE MIEL DE ABEJA (*Apis mellifera*) MULTIFLORAL DE HUARÁN CALCA Y DE LA MIEL DE EUCALIPTO DE CHACAN ANTA, CUSCO 2023.

MAPA: ECOSISTEMAS DEL AREA DE INFLUENCIA - CHACAN

| | | |
|--------------------------|---------------------|--|
| UBICACIÓN: | | FUENTE: |
| Centro Poblado: | Chacan | Open Street Map |
| Distrito: | Anta | Mapa de Ecosistemas del Peru, MINAM 2018 |
| Provincia: | Anta | Instituto Geografico Nacional (IGN) |
| Region: | Cusco | |
| Proyeccion: UTM | Datum: WGS84 | Zona: 18 S |
| Fecha: julio 2023 | | TESISTAS: |
| | | Bachiller Isaura Achahui Chuctaya bachiller Alexander Quispe Huaman |

ANEXO N° 3 NORMA DE CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO

NTS N° 071 - MINSA/DIGESA-V.01. NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO

1. FINALIDAD

La presente norma sanitaria se establece para garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos y bebidas destinados al consumo humano, siendo una actualización de la Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM que aprobó los "Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano".

2. OBJETIVO

Establecer las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano.

3. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La presente norma sanitaria es de obligatorio cumplimiento en todo el territorio nacional, para efectos de todo aspecto relacionado con la vigilancia y control de la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos.

4. BASE LEGAL Y TÉCNICA

Base legal

- Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, aprobado por Decreto Supremo N° 007-98-SA.



J. HERNÁNDEZ C.

Base técnica

- Principios para el establecimiento y la Aplicación de Criterios Microbiológicos para los Alimentos del *Codex Alimentarius* (CAC/GL-21, 1997).
- Microorganismos de los Alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. ICMSF, 2da. Edición, 1999.

5. DISPOSICIONES GENERALES

5.1. DEFINICIONES OPERATIVAS

Para fines de la presente Norma Sanitaria se establecen las siguientes definiciones:

Alimentos aptos para consumo humano: Alimentos que cumplen con los criterios de calidad sanitaria e inocuidad establecidos por la norma sanitaria.

Alimento: Toda sustancia elaborada, semielaborada o en bruto, que se destina al consumo humano, incluido el chicle y cualesquiera otras sustancias que se utilicen en la elaboración, preparación o tratamiento de "alimentos", pero no incluye los cosméticos, el tabaco ni las sustancias que se utilizan únicamente como medicamentos.

Alimentos para regímenes especiales: Alimentos elaborados o preparados especialmente para satisfacer necesidades determinadas por condiciones físicas o fisiológicas particulares. La composición de esos alimentos es fundamentalmente diferente de la composición de los alimentos ordinarios de naturaleza análoga. Están incluidos los alimentos de uso infantil, destinados a Programas Sociales de Alimentación (PSA).

Alimento ácido: Todo alimento cuyo pH natural sea de 4,6 o menor.



C. Reyes J.

NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO

CAPÍTULO I GENERALIDADES

Artículo 1°.- Finalidad

La presente norma se establece para garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos y bebidas destinados al consumo humano.

Artículo 2°.- Objetivo

Establecer las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano.

Artículo 3°.- Ámbito de aplicación

La presente Norma Sanitaria es de obligatorio cumplimiento en todo el territorio nacional, para efectos de:

- 1) La obtención del Registro Sanitario de Alimentos y Bebidas.
- 2) La obtención del Certificado Sanitario Oficial de Exportación.
- 3) La vigilancia y control sanitario que realiza la Autoridad Sanitaria.
- 4) La verificación o comprobación de la eficacia del Plan HACCP.
- 5) Control analítico de cada lote de producto antes de ser liberado para su comercialización, para el caso de las fábricas que aún no implementan el Sistema HACCP.
- 6) Aclarar dirimencias, inmovilizaciones, denuncias, operativos

Artículo 4°.- Base legal y técnica

La presente norma sanitaria se establece en el marco del Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, aprobado por Decreto Supremo N° 007.98 SA y en concordancia técnico normativa con los Principios para el establecimiento y la Aplicación de Criterios Microbiológicos para los Alimentos del Codex Alimentarius (CAC/GL-21(1997) y con la clasificación y planes de muestreo de la International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF)

CAPÍTULO II DISPOSICIONES GENERALES

Artículo 5°.- Conformación de los criterios microbiológicos

Los criterios microbiológicos están conformados por:

- a) El grupo de alimento al que se aplica el criterio.
- b) Los agentes microbiológicos a controlar en los distintos grupos de alimentos.
- c) El plan de muestreo que ha de aplicarse al lote o lotes de alimentos.
- d) Los límites microbiológicos establecidos para los grupos de alimentos.

Artículo 6°.- Aptitud microbiológica para el consumo humano

Los alimentos y bebidas serán considerados microbiológicamente aptos para el consumo humano cuando cumplan en toda su extensión con los criterios microbiológicos establecidos en la presente norma sanitaria para el grupo y subgrupo de alimentos al que pertenece.

Artículo 7.- Planes de muestreo

El plan de muestreo sólo se aplica a lote o lotes de alimentos y bebidas. Se sustenta en el riesgo para la salud y las condiciones normales de manipulación y consumo del alimento, y establece:

- a) Categoría de riesgo: Escala relativa al riesgo que representa un alimento y a la manipulación posterior prevista.
- b) Componentes del plan de muestreo
 - "n" (minúscula): Número de unidades de muestra requeridas para realizar el análisis, que se eligen separada e independientemente, de acuerdo a normas nacionales o internacionales referidas a alimentos y bebidas apropiadas para fines microbiológicos.
 - "c": Número máximo permitido de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o unidades de muestra provisionalmente aceptables en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecte un número de unidades de muestra mayor a "c" se rechaza el lote.
 - "m" (minúscula): Límite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable. En general, un valor igual o menor a "m", representa un producto aceptable y los valores superiores a "m" indican lotes rechazables en un plan de muestreo de 2 clases.
 - "M" (mayúscula): Los valores de recuentos microbianos superiores a "M" son inaceptables, el alimento representa un riesgo para la salud.
- c) Tipos de plan de muestreo para lote o lotes:

Plan de 2 clases: Es un plan de muestreo por atributos, donde puede establecerse únicamente la condición de "aceptable" o "rechazable". Un plan de 2 clases queda definido por "n" y "c";

Para microorganismos patógenos:

Condición de "aceptable" = ausencia

Condición de "rechazable" = presencia

Para otros microorganismos

Condición de "aceptable" = menor o igual al nivel crítico establecido, "c"

Condición de "rechazable" = mayor al nivel crítico establecido, "c"

Plan de 3 clases: Es un plan de muestreo por atributos que queda definido por "n", "c", "m", "M"; donde se establece:

Condición de "aceptable":

Cuando todas las unidades de muestra presentan recuentos igual o inferiores a "m".

Cuando hasta "c" unidades de muestra pueden tener recuentos entre "m" y "M" (incluido "M").

Condición de "rechazo":

Cuando más de "c" unidades de muestra presentan recuentos entre "m" y "M" (incluido "M").

Cuando al menos 1 de las unidades de muestra presentan recuentos superiores a "M".

PLANES DE MUESTREO PARA COMBINACIONES DE DIFERENTE GRADO DE RIESGO PARA LA SALUD Y DIVERSAS CONDICIONES DE MANIPULACIÓN

| Grado de importancia en relación con la utilidad y riesgo sanitario | Condiciones esperadas de manipulación y consumo del alimento o bebida luego del muestreo | | |
|---|--|--|--|
| | Grado de peligrosidad reducido | Sin cambio de peligrosidad | Aumento de Peligrosidad. |
| Vida útil y alteración | Aumento de vida útil Categoría 1 3 clases n = 5, c=3. | Sin modificación Categoría 2 3 clases n = 5, c=2. | Disminución de vida útil Categoría 2 3 clases n = 5, c=3. |
| Indicadores de riesgo bajo indirecto para la salud | Disminución del riesgo Categoría 4 3 clases n = 5, c=3. | Sin modificación Categoría 5 3 clases n = 5, c=2. | Aumento del riesgo Categoría 6 3 clases n = 5, c=1. |
| Patógenos de riesgo moderado directo, de diseminación limitada. | Categoría 7 3 clases n = 5, c=2. | Categoría 8 3 clases n = 5, c=1. | Categoría 9 3 clases n = 10 c=1. |
| Patógenos de riesgo moderado directo, de diseminación potencialmente extensa. | Categoría 10 2 clases n = 5, c=0. | Categoría 11 2 clases n = 10 c=0. | Categoría 12 2 clases n = 20 c=0. |
| Patógenos de riesgo grave directo para la salud. | Categoría 13 2 clases n = 15, c=0. | Categoría 14 2 clases n = 30 c=0. | Categoría 15 2 clases n = 60 c=0. |

Artículo 8°.- Número de unidades de muestra para Registro Sanitario de alimentos y bebidas

El número de unidades de muestra de alimentos y bebidas (n) para la inscripción o reinscripción en el Registro Sanitario podrá ser igual a uno (n=1) y deberá ser calificada con los límites más exigentes (m) indicados en la presente disposición para ese tipo de alimento o bebida.

Artículo 9°.- Número de unidades de muestra para la verificación del Plan HACCP

Para la verificación del Plan HACCP, el número de unidades de muestra de los planes de muestreo podrá ser igual a uno (n=1) y deberá ser calificada con los límites más exigentes (m) indicados en la presente disposición para ese tipo de alimento o bebida. Esto procederá, si las personas naturales y jurídicas que operan o intervienen en cualquier proceso de fabricación, elaboración e industrialización de alimentos y bebidas demuestran mediante documentación histórica con un mínimo de 3 años, que cuentan con procedimientos eficaces basados en los principios del sistema HACCP.

Artículo 10°.- Número de unidades de muestra para la vigilancia sanitaria de alimentos preparados

Para el caso de la vigilancia sanitaria de alimentos y bebidas preparados provenientes de establecimientos de comercialización, preparación y expendio, se tomará al menos una muestra por cada tipo de alimento y deberán ser calificadas con los límites más exigentes (m), indicados en la presente disposición para ese tipo de alimento o bebida.

CAPITULO III DE LOS MICROORGANISMOS Y METODOS DE ANALISIS

Artículo 11°.- Grupos de microorganismos

Como referencia para los criterios microbiológicos, en general los microorganismos se agrupan como:

1. - Microorganismos indicadores de alteración: las categorías 1, 2, 3 definen los microorganismos asociados con la vida útil y alteración del producto tales como microorganismos aeróbios mesófilos, aerobios mesófilos esporulados, Mohos y Levaduras, *Lactobacillus*, microorganismos lipolíticos.

2. - Microorganismos indicadores de higiene: en las categorías 4, 5, y 6 se encuentran los microorganismos no patógenos que suelen estar asociados a ellos, como Coliformes (que para efectos de la presente norma sanitaria se refiere a Coliformes Totales), *Enterobacteriaceas*, a excepción de este último en el caso de "Preparaciones en polvo para Lactantes.

3. - Microorganismos patógenos: son los que se hallan en las categorías 7 a la 15. Las categorías 7, 8 y 9 corresponde a microorganismos patógenos tales como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, cuya cantidad en los alimentos condiciona su peligrosidad para causar enfermedades alimentarias. A partir de la categoría 10 corresponde a microorganismos patógenos, tales como *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli H7 O15,7* entre otros patógenos, cuya sola presencia en los alimentos condiciona su peligrosidad para la salud.

Artículo 12°.- Métodos de análisis

Los métodos de análisis a utilizar deben ser métodos validados y reconocidos por organismos internacionales. La modificación de estos métodos o el uso de métodos propios deberán ser validados para poder ser utilizados.

Artículo 13°.- Reportes de ensayo

Los Informes de Ensayo, Certificados de Análisis y otras formas de reporte emitidos por los laboratorios, deberán indicar el método de análisis empleado y la expresión de resultados acorde con el método debe expresarse en: UFC/g, UFC/mL, NMP/g, NMP/mL ó Ausencia/25 g. ó mL.

CAPITULO IV DE LOS GRUPOS DE ALIMENTOS Y CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS

Artículo 14°.- Grupos de alimentos

Para los efectos de la presente disposición sanitaria, se establecen 19 grupos de alimentos y bebidas según su origen, tecnología aplicada en su procesamiento o elaboración y grupo consumidor; siendo estos:

1. Leche y productos lácteos
2. Helados y mezclas para helados
3. Productos grasos
4. Productos deshidratados, liofilizados o concentrados y mezclas
5. Granos de Cereales, leguminosas y derivados
6. Azúcares, mieles y productos similares
7. Productos de confitería y derivados del cacao
8. Productos de panadería, pastelería, galletería y otros
9. Alimentos para Regímenes especiales.
10. Carnes y productos cárnicos

11. Productos hidrobiológicos
12. Huevos y ovoproductos
13. Especias, condimentos y salsas
14. Frutas, hortalizas y frutos secos.
15. Comidas preparadas
16. Bebidas
17. Estimulantes y fruitivos
18. Semiconservas
19. Conservas

Artículo 15°.- Criterios microbiológicos

Los alimentos y bebidas deben cumplir integralmente con la totalidad de los criterios microbiológicos correspondientes a su grupo o subgrupo para ser considerados aptos para el consumo humano:

| 1. LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS | | | | | | |
|--|-----------|-------|---|---|---------------------|-------------------|
| 1.1 Leche Cruda destinada a uso de la industria láctea. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por mL. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 3 | 3 | 5 | 1 | 5x10 ⁶ | 10 ⁷ |
| 1.2 Leche y Crema de Leche Pasteurizada | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. ó mL. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 2x10 ⁴ | 5x10 ⁴ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 1 | 10 |
| 1.3 Leche Ultrapasteurizada | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por mL. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 10 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Coliformes | 6 | 3 | 5 | 2 | 1 | 10 |
| 1.4 Leche UHT (entera, semidescremada, descremada) y Crema de leche UHT o esterilizada comercialmente | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. o mL. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos (*) | 10 | 2 | 5 | 0 | 10 ² | ---- |
| (*) Previa incubación a 35-37° C durante 7 días. | | | | | | |
| 1.5 Leche y Cremas de leche en polvo | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 3x10 ⁴ | 3x10 ⁵ |
| Coliformes | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 1.6 Leche condensada azucarada y Dulces de leche (manjar, natillas y otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |

| Mohos y Levaduras osmófilas | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
|--|-----------|-------|---|---|-------------------|-----------------|
| 1.7. Leches Fermentadas y Acidificadas (yogur, leche cultivada, cuajada, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| Levaduras | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| 1.8 Postres a base de leche no acidificados listos para consumir (flanes, pudines, crema volteada, mazamorra de leche, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| Levaduras | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 1.9. Quesos Frescos (queso fresco tradicional, mantecoso, ricotta, cabaña, petit suisse, mozzarella, ucayalino, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 5x10 ² | 10 ³ |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 3 | 10 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | -- |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 1.10 Quesos Madurados (camembert, brie, roquefort, gorgonzola, cuartirolo, bel paese, Cajamarca, tilsit, andino, majes, characato, sabandía, dambo, gouda, edam, paria, emmental, gruyere, cheddar, provolone amazónico, parmesano, otros.) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| <i>Enterobacteriaceas</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 2x10 ² | 10 ³ |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | -- |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 1.11 Quesos Procesados (fundidos: laminados, rallados, en pasta, en polvo) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Coliformes | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| 2. HELADOS Y MEZCLAS PARA HELADOS | | | | | | |
| 2.1 Helados a base de leche. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |

| | | | | | m | M |
|---|-----------|-------|---|---|-----------------|---------------------|
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 2.2 Helados a base de leche y postres a base de helados (con ingredientes no pasteurizados: coberturas, mani, mermeladas, frutas confitadas u otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 2 x 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| <i>Listeria monocytogenes en 25 g.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 2.3 Helados a base de agua | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp. (*)</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Sólo para los que contienen pulpa de fruta | | | | | | |
| 2.4 Mezclas deshidratadas para helados | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 3. PRODUCTOS GRASOS. | | | | | | |
| 3.1 Mantequillas y Margarinas | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Microorganismos lipolíticos | 1 | 3 | 5 | 3 | 10 ² | 10 ³ |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| Coliformes | 4 | 3 | 5 | 3 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 7 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| 4. PRODUCTOS DESHIDRATADOS: liofilizados, concentrados, mezclas. | | | | | | |
| 4.1 Sopas, cremas, salsas y puré de papas u otros, de uso instantáneo, que no requieren cocción | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesofilos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ⁴ |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |

| <i>Bacillus cereus</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
|---|-----------|-------|---|---|-----------------|-----------------|
| <i>Clostridium perfringens</i> (*) | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| (*) Sólo para productos que contengan carnes. | | | | | | |
| 4.2 Sopas cremas salsas y purés de legumbres u otros deshidratadas que requieren cocción | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesofilos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Coliformes | 4 | 3 | 5 | 3 | 10 | 10 ² |
| <i>Bacillus cereus</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Clostridium perfringens</i> (*) | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| (*) Solo para productos que contengan carnes. | | | | | | |
| 4.3 Mezclas en seco de uso instantáneo (refrescos, gelatinas, jaleas, cremas, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesofilos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ⁴ |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Bacillus cereus</i> (*) | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> (**) | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| (*) Sólo para productos que contengan cereales | | | | | | |
| (**) Sólo para productos que contengan leche, cacao y/o huevo. | | | | | | |
| 4.4 Mezclas en seco que requieren cocción (pudines, flanes, entre otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesofilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Coliformes | 4 | 3 | 5 | 3 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Bacillus cereus</i> (*) | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> (**) | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| (*) Sólo para productos que contengan leche o cereales. | | | | | | |
| (**) Sólo para productos que contengan leche, cacao y/o huevo. | | | | | | |
| 4.5 Caldos concentrados en pasta. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesofilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| Coliformes | 4 | 3 | 5 | 3 | 10 | 10 ² |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 5. GRANOS DE CERALES, LEGUMINOSAS, QUENOPODACEAS Y DERIVADOS (harinas y otros) | | | | | | |
| 5.1 Granos secos | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |

| | | | | | m | M |
|--|-----------|-------|---|---|-----------------|-----------------|
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| 5.2 Harinas y Sémolas | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Bacillus cereus</i> (*) | 7 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| (*) Sólo para harinas de arroz y/o maíz | | | | | | |
| 5.3 Féculas y Almidones | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Bacillus cereus</i> | 7 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 5.4 Pastas y masas frescas y/o precocidas sin relleno refrigeradas o congeladas (panes, precocidos, masas para wantan, para lasaña, para fideos chinos, pre pizzas, masa crudas, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Bacillus cereus</i> (*) | 7 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| (*) Sólo para productos que contengan arroz y/o maíz | | | | | | |
| 5.5. Pastas y masa frescas y/o precocidas con relleno refrigeradas o congeladas (wantan, lasaña, ravioles, canelones, pizzas, minpao, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Clostridium perfringens</i> (*) | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Bacillus cereus</i> (**) | 7 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Para alimentos que contengan carnes y verduras | | | | | | |
| (**) Sólo para productos que contengan arroz y/o maíz | | | | | | |
| 5.6 Fideos o Pastas Desecadas con o sin relleno (Incluye fideos a base de verduras, al huevo, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |

| <i>Clostridium perfringens</i> (*) | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
|--|-----------|-------|---|---|--------------------|-----------------|
| <i>Salmonella</i> sp. | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Solo para pastas con relleno de carne | | | | | | |
| 5.7 Productos instantáneos extruidos o expandidos proteinizados o no y hojuelas a base de granos (gramíneas, quenopodáceas y leguminosas) que no requieren cocción. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Bacillus cereus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ⁴ |
| <i>Salmonella</i> sp. | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ---- |
| 5.8 Hojuelas a base de granos (gramíneas, quenopodáceas y leguminosas) que requieren cocción. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁴ | 10 ⁶ |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Bacillus cereus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ⁴ |
| <i>Salmonella</i> sp. | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 6. AZUCARES, MIELES, Y PRODUCTOS SIMILARES. | | | | | | |
| 6.1 Azúcares (blanca, rubia, refinada, blanco directo, en polvo, blanda u otros) u otros edulcorantes sólidos (dextrosa, fructosa u otros) | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 1 | 3 | 5 | 3 | 10 ² | 10 ³ |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 3 | <10 | 10 |
| Levaduras | 2 | 3 | 5 | 2 | <50 | 50 |
| 6.2 Jarabes (de maple, de maíz, y otros como la algarrobina), otros edulcorantes líquidos (sacarosa, glucosa, fructosa, azúcar invertido, azúcar líquido, otros) | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. ó mL | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 1 | 3 | 5 | 3 | 10 ² | 10 ³ |
| Enterobacteriaceas (*) | 5 | 3 | 5 | 2 | <1 | 10 |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| Levaduras osmófilas | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| (*) Para los de consumo directo. Para los que requieren dilución para su análisis m=<10 | | | | | | |
| 6.3 Miel, Jalea Real y similares | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 1 | 3 | 5 | 3 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| Anaerobios sulfito reductores | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |

| 6.4 Productos relacionados a la miel (polen, polimiel, propolio, otros) | | | | | | |
|--|-----------|-------|--------|---|--------------------|-----------------|
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 1 | 3 | 5 | 3 | 10^3 | 10^4 |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10^2 |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 3 | 10 |
| 7. PRODUCTOS DE CONFITERIA. | | | | | | |
| 7.1 Chocolates de leche, chocolate blanco, chocolate para taza, chocolate de cobertura con o sin relleno (bombones, tejas y chocotejas) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por gr. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos (*) | 5 | 3 | 5 | 2 | 10^2 | 10^3 |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 3 | 10 |
| <i>Salmonella sp.</i> | 11 | 2 | 10(**) | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Sólo en el caso de chocolates rellenos | | | | | | |
| (**) Hacer composito para n = 5. | | | | | | |
| 7.2 Caramelos duros (sin relleno) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por gr. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10^2 | 5×10^2 |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 5×10 |
| 7.3 Caramelos blandos, semiblandos y duros con relleno, goma de mascar, marshmallows y otros productos de confitería con o sin relleno. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por gr. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10^2 | 10^4 |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 50 | 3×10^2 |
| 7.4 Turrón blando o duro de confitería | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por gr. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10^2 | 3×10^2 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (*) | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10^2 |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Sólo para productos que contienen leche | | | | | | |
| 7.5 Cocoa, torta de cacao, pasta de cacao o licor de cacao | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por gr ó mL | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesofilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10^3 | 10^4 |
| Mohos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10^2 | 3×10^2 |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 8. PRODUCTOS DE PANADERIA PASTELERIA, GALLETERIA Y OTROS. | | | | | | |
| 8.1 Productos de panadería y pastelería con o sin relleno y/o cobertura que no requieren refrigeración (pan, galletas y panes enriquecidas o fortificadas, tostadas, bizcochos, panetón, queques, galletas, obleas, otros similares) | | | | | | |

| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
|--|-----------|-------|-------|---|-------------------|-----------------|
| | | | | | m | M |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Escherichia coli</i> (*) | 6 | 3 | 5 | 1 | 3 | 20 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (*) | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Clostridium perfringens</i> (**) | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> (*) | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ---- |
| (*) Para productos con relleno | | | | | | |
| (**) Adicionalmente para productos con rellenos de carne y/o vegetales | | | | | | |
| 8.2 Productos de pastelería dulce y salado que requieren refrigeración (pasteles, tortas, empanadas, otros similares) | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 20 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Clostridium perfringens</i> (*) | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Para aquellos productos con rellenos de carne y/o vegetales | | | | | | |
| 9. ALIMENTOS PARA REGIMENES ESPECIALES | | | | | | |
| 9.1 Preparaciones en polvo para lactantes. (Fórmula para lactantes como sucedáneos de la leche materna) | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| Coliformes | 6 | 3 | 5 | 1 | < 3 | 20 |
| <i>Enterobacteriaceas</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | <10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | < 3 | 10 |
| <i>Bacillus cereus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | < 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 12 | 2 | 60(*) | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Hacer compósito para analizar n=5. | | | | | | |
| 9.2 Producto cocido de reconstitución instantánea destinado a niños entre 6 a 36 meses (papilla y similares) | | | | | | |
| Agentes microbianos | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ⁴ |
| Levaduras | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ⁴ |
| Coliformes | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Bacillus cereus</i> | 9 | 3 | 10 | 1 | 10 ² | 10 ⁴ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 15 | 2 | 60(*) | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Hacer compósito para analizar n= 5 | | | | | | |
| 9.3 Productos cocido de reconstitución instantánea, como enriquecidos lácteos, sustitutos lácteos, mezclas fortificadas, otros similares. | | | | | | |
| Agentes microbianos | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |

| | | | | | m | M |
|--|-----------|-------|--------|---|-----------------|---------------------|
| Aerobios mesófilos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Mohos | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| Levaduras | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| Coliformes | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Bacillus cereus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 12 | 2 | 20 (*) | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Hacer compósito para analizar n= 5 | | | | | | |
| 9.4 Productos crudos deshidratados y precocidos que requieren cocción, como hojuelas, harinas, otros similares. | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| Levaduras | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Bacillus cereus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 9.5 Producto cocido de consumo directo, como extruidos, expandidos, hojuela instantánea, otros similares. | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 3 | 3 | 5 | 3 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Levaduras | 3 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Bacillus cereus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 9.6 Productos dietéticos que requieren reconstitución para su consumo | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 1 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 5x10 ⁴ |
| Mohos (*) | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 3 x 10 ² |
| Coliformes | 6 | 3 | 5 | 1 | <3 | 10 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | < 3 | 10 |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Para productos que contengan cereales. | | | | | | |
| 9.7 Productos dietéticos que requieren cocción antes de su consumo | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁵ | 10 ⁶ |
| Mohos (*) | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |

| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | < 3 | 10 |
|--|-----------|-------|---|---|-------------------|---------------------|
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Para productos que contengan cereales. | | | | | | |
| 9.8. Productos dietéticos listos para su consumo no comprendidos en los anteriores | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| Mohos (*) | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 3 x 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | < 3 | 10 |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| (*) Para productos que contengan cereales. | | | | | | |
| 9.9. Productos tratados térmicamente esterilizados y envasados en recipiente herméticamente cerrados | | | | | | |
| Deben estar exentos de microorganismos capaces de proliferar en el producto en condiciones normales no refrigeradas de almacenamiento y distribución. Procede aplicar lo establecido señalado para el Grupo 20. Conservas. | | | | | | |
| 10. CARNES Y PRODUCTOS CARNICOS. | | | | | | |
| 10.1 Carne cruda, refrigerada y congelada de ave (pollo, gallina, pavo, pato, avestruz, otras) | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos (30 °C) | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁵ | 10 ⁷ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 10.2 Carne de ave precocida congelada, que requiere tratamiento térmico antes de su consumo. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 10.3 Carne cruda, refrigerada y congelada de bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, camélidos, equinos, otros. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos (30°C) | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁵ | 10 ⁷ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | |
| 10.4 Visceras refrigeradas y congeladas de aves, bovinos, otros. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos (30°C) | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁵ | 10 ⁷ |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 50 | 5x10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 10.5 Apéndices refrigerados y congelados (cabeza, lengua, patas y cola) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos (30°C) | 1 | 3 | 5 | 3 | 5x10 ³ | 10 ⁷ |

| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ---- |
|---|-----------|-------|---|---|-----------------|---------------------|
| 10.6 Carnes crudas picadas y molidas | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos (30°C) | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁵ | 10 ⁷ |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 50 | 5x10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 7 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ---- |
| <i>Escherichia coli</i> 0157:H7 | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ---- |
| 10.7 Preparados de carnes refrigeradas o Congeladas (hamburguesas, milanesas, croquetas y otros empanizados o aderezados) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos (30°C) | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁵ | 10 ⁷ |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 50 | 5 x 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Clostridium perfringens</i> (*) | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ---- |
| <i>Escherichia coli</i> 0157:H7 | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| (*) Sólo para productos con embalaje, película impermeable o atmósfera modificada o al vacío en lugar de aerobios mesófilos. | | | | | | |
| 10.8 Carnes secas, seco-saladas (charqui, chalonga, cecina) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 10.9 Embutidos crudos (chorizos, salchicha tipo huacho, otros) y Piezas cárnicas crudas curadas (jamón serrano, jamón crudo, panceta, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesofilos (30° C) | 1 | 3 | 5 | 3 | 10 ⁵ | 10 ⁷ |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 50 | 5x10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 10.10 Embutidos crudos madurados (chorizos, salami, salchichón, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 10.11 Embutidos con tratamiento térmico (Curados: jamón inglés, tocino, costillas, chuletas, otros. Escaldados: hot dog, salchichas. Fiambres: jamonada, mortadela, pastel de jamón, pastel de carne, longaniza, otros. Cocidos: queso de choncho, morcilla, relleno, chicharrón de prensa, paté, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |

| | | | | | | |
|--|-----------|-------|---|---|-----------------|-----------------|
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 3 | 3 | 5 | 1 | 5×10^4 | 5×10^5 |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10^2 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10^2 |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10^2 |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 11. PRODUCTOS HIDROBIOLÓGICOS. | | | | | | |
| 11.1 Productos hidrobiológicos crudos (frescos, refrigerados, congelados, salpessos ó ahumados en frío) | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos (30 °C) | 1 | 3 | 5 | 3 | 5×10^5 | 10^6 |
| <i>Escherichia coli</i> | 4 | 3 | 5 | 3 | 10 | 10^2 |
| <i>Saphylococcus aureus</i> | 7 | 3 | 5 | 2 | 10^2 | 10^3 |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 11.2 Producto hidrobiológico precocido y cocido (congelados o refrigerado) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos (30 °C) | 2 | 3 | 5 | 2 | 10^4 | 10^5 |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10^2 |
| <i>Saphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10^2 | 10^3 |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 11.3 Moluscos bivalvos crudos (frescos, refrigerados o congelados) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos (30 °C) | 1 | 3 | 5 | 3 | 5×10^6 | 10^7 |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 2 | 5 | 0 | 230 / 100 g. | --- |
| <i>Saphylococcus aureus</i> | 7 | 3 | 5 | 2 | 10^2 | 10^3 |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 11.4 Productos hidrobiológicos ahumados en caliente. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 1 | 3 | 5 | 3 | 10^4 | 10^5 |
| <i>Enterobacteriaceas</i> | 4 | 3 | 5 | 3 | 10^2 | 10^3 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 7 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10^2 |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10^2 |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 11.5 Productos hidrobiológicos secos, seco-salados y salado. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 1 | 3 | 5 | 3 | 10^4 | 10^5 |
| Mohos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10^2 | 10^3 |
| Levaduras | 3 | 3 | 5 | 1 | 10^2 | 10^3 |

| | | | | | | |
|---|-----------|-------|---|---|---------------------|---------------------|
| <i>Enterobacteriaceas</i> | 4 | 3 | 5 | 3 | 10 | 10 ² |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| 11.6 Productos hidrobiológicos empanizados, crudos y congelados. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 1 | 3 | 5 | 3 | 5x10 ⁵ | 10 ⁶ |
| <i>Escherichia coli</i> | 4 | 3 | 5 | 3 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 7 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| 11.7 Productos hidrobiológicos, empanizados, precocidos y cocidos, congelados. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ¹ | 10 ² |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| 11.8 Productos hidrobiológicos deshidratados (concentrados proteicos, harinas y otros de consumo humano) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Levaduras | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Enterobacteriaceas</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 12. HUEVOS Y OVOPRODUCTOS. | | | | | | |
| 12.1 Huevos con cáscara | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por mL | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos (*) | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> (*) | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| (*) Determinación en el contenido del huevo | | | | | | |
| 12.2 Huevo (clara y/o yema) y ovoproductos pasteurizados, líquidos, congelado y/o deshidratados. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. o mL | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 5 x 10 ¹ | 10 ² |
| Mohos (*) | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| (*) Sólo para productos deshidratados | | | | | | |
| 13. ESPECIAS, CONDIMENTOS Y SALSAS | | | | | | |
| 13.1 Mayonesa y otras salsas a base de huevos. | | | | | | |
| Agentes microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ¹ | 5 x 10 ¹ |
| Levaduras | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |

| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
|---|-----------|-------|---|---|-------------------|-------------------|
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 13.2 Salsas (de tomate, picantes, de soya, de tamarindo, de mostaza) y aderezos. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g ó mL | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Levaduras | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| 13.3 Especies y condimentos deshidratados | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos esporulados | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁵ | 10 ⁶ |
| Mohos | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Escherichia coli</i> (*) | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ---- |
| (*) Sólo para los productos de consumo directo | | | | | | |
| 14. FRUTAS, HORTALIZAS, FRUTOS SECOS Y SIMILARES. | | | | | | |
| 14.1 Frutas y hortalizas frescas. (sin ningún tratamiento) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 14.2 Frutas y hortalizas frescas semiprocesadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o precocidas), refrigeradas y/o congeladas. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 1 | 3 | 5 | 3 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| <i>Listeria monocytogenes</i> (*) | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| (*) Solo para frutas y hortalizas de tierra (a excepción de las precocidas). | | | | | | |
| 14.3 Frutas y hortalizas desecadas, deshidratadas o liofilizadas | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| Levaduras | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 5x10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | --- |
| 14.4 Frutas y hortalizas en vinagre, aceite o salmuera o fermentadas | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Levaduras | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ³ | 10 ⁴ |

| 14.5 Frutos secos (dátiles, tamarindo, otros) y Semillas (castañas, mani, pecanas, nuez, almendras, otros). | | | | | | |
|--|-----------|-------|---|---|--------------------|-----------------|
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| Levaduras | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ⁴ |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| 15. COMIDAS PREPARADAS | | | | | | |
| 15.1 Comidas Preparadas sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa huancaina, ocopa, postres, jugos, otros). Comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico (ensaladas mixtas, palta rellena, sándwiches, cebiche, postres, refrescos, otros). | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. ó mL | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ² |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Staphylococcus aureus.</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ⁴ |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 15.2 Comidas preparadas con tratamiento térmico (ensaladas cocidas, guisos, arroces, postres cocidos, arroz con leche, mazamorra, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g. ó mL | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios Mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 ⁴ | 10 ³ |
| Coliformes | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ⁴ |
| <i>Staphylococcus aureus.</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | < 3 | ----- |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g | ----- |
| 16. BEBIDAS. | | | | | | |
| 16.1 Bebidas jarabeadas y no jarabeadas carbonatadas. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por mL | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 50 |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 5 | 10 |
| Levaduras | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 30 |
| 16.2 Bebidas jarabeadas y no jarabeadas no carbonatadas (zumos, néctares, extractos y productos concentrados) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por mL | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| Mohos | 2 | 3 | 5 | 2 | 1 | 10 |
| Levaduras | 2 | 3 | 5 | 2 | 1 | 10 |
| Coliformes | 5 | 2 | 5 | 0 | < 2.2 | ----- |
| 16.3 Agua mineral, Agua de mesa, hielo. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por mL | |

| | | | | | m | M |
|--|------------------|-------|------------------------|---------------------------|------------------|-----------------|
| Bacterias Heterotróficas | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 50 |
| Coliformes | 5 | 2 | 5 | 0 | < 2,2 | ---- |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia /100 mL | ---- |
| 17. ESTIMULANTES Y FRUITIVOS. | | | | | | |
| 17.1 Café y Sucedáneos de café | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ² |
| <i>Bacillus cereus</i> (*) | 8 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| (*) Para sucedáneos de café | | | | | | |
| 17.2 Hierbas de uso alimentario para infusiones (té, mate, manzanilla, boldo, otros) | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Mohos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| <i>Enterobacteriaceas</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| 18. SEMICONSERVAS | | | | | | |
| 18.1 Semiconservas de pH > 4.6. | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Aerobios mesófilos | 3 | 3 | 5 | 1 | 10 ² | 10 ³ |
| Mohos (*) | 3 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Levaduras (*) | 3 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Enterobacteriaceas</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (**) | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 6 | 3 | 5 | 1 | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | Ausencia/25 g. | ----- |
| (*) Solo para semiconservas de origen vegetal | | | | | | |
| (**) Solo para semiconservas de origen animal | | | | | | |
| 18.2 Semiconservas de pH < a 4.6 | | | | | | |
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Limite por g. | |
| | | | | | m | M |
| Bacterias ácido lácticas | 3 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Mohos | 3 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| Levaduras | 3 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| 19. CONSERVAS. | | | | | | |
| 19.1 Alimentos de baja acidez, de pH > 4.6 procesados térmicamente y empacados en envases sellados herméticamente (de origen animal, algunos vegetales, guisados, sopas) | | | | | | |
| Análisis | Plan de muestreo | | Aceptación | Rechazo | | |
| | n | c | | | | |
| Prueba de Esterilidad Comercial(*) | 5 | 0 | Estéril Comercialmente | No estéril Comercialmente | | |

| (*) De acuerdo con Métodos Normalizados ó métodos descritos por Organizaciones con credibilidad internacional tales como la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC), ó Asociación Americana de Salud Pública (APHA) sobre Prueba de Esterilidad Comercial, considerando las temperaturas, tiempos de incubación e indicadores microbiológicos del mencionado método, los cuales deben especificarse en el Informe de Ensayo. | | | | |
|---|------------------|---|------------------------|---------------------------|
| Nota 1: La prueba de esterilidad comercial se realiza en envases que no presenten ningún defecto visual. Si luego de la incubación el producto presenta alguna alteración en el olor, color, apariencia, pH, el producto se considerará "No estéril Comercialmente". | | | | |
| Nota 2: Si tras la inspección sanitaria resulta necesario tomar muestras de unidades defectuosas para determinar las causas, se procederá con el Método de análisis microbiológico para determinar las causas microbiológicas del deterioro según métodos establecidos en el <i>Codex Alimentarius</i> , Manual de Bacteriología Analítica BAM de la Administración de Alimentos y Drogas FDA ó Asociación Americana de Salud Pública APHA. | | | | |
| 19.2 Alimentos ácidos (ej. Frutas y hortalizas en conserva, compotas, jaleas, mermeladas) y Alimentos de baja acidez acidificados (ej. alcachofas, frijoles, coles, coliflores, pepinos) de pH < 4.6, procesados térmicamente y en envases sellados herméticamente. | | | | |
| Análisis | Plan de muestreo | | Aceptación | Rechazo |
| | n | c | | |
| Prueba de Esterilidad Comercial(*) | 5 | 0 | Estéril Comercialmente | No estéril Comercialmente |
| (*) De acuerdo con Métodos Normalizados ó métodos descritos por Organizaciones con credibilidad internacional tales como la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC), ó Asociación Americana de Salud Pública (APHA) sobre Prueba de Esterilidad Comercial, considerando las temperaturas, tiempos de incubación e indicadores microbiológicos del mencionado método, los cuales deben especificarse en el Informe de Ensayo. | | | | |
| Nota 1: La prueba de esterilidad comercial se realiza en envases que no presenten ningún defecto visual. Si luego de la incubación el producto presenta alguna alteración en el olor, color, apariencia, pH, el producto se considerará "No estéril Comercialmente". | | | | |
| Nota 2: Si tras la inspección sanitaria resulta necesario tomar muestras de unidades defectuosas para determinar las causas, se procederá con el Método de análisis microbiológico para determinar las causas microbiológicas del deterioro según métodos establecidos en el <i>Codex Alimentarius</i> , Manual de Bacteriología Analítica BAM de la Administración de Alimentos y Drogas FDA ó Asociación Americana de Salud Pública APHA. | | | | |

DISPOSICIONES FINALES

Primera: Queda derogado el documento "Criterios Microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano", aprobado por Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM, toda vez que la presente Norma Sanitaria lo actualiza.

Tercera: La Autoridad Sanitaria del nivel nacional, regional y local supervisará el cumplimiento de la aplicación de la presente norma sanitaria en resguardo de la salud pública.

Cuarta: La Autoridad Sanitaria podrá realizar muestreos y análisis adicionales con el fin de detectar y/o cuantificar otros microorganismos, sus toxinas o metabolitos, ya sea a efectos de verificar procesos, de evaluar riesgos, con fines epidemiológicos, de rastreabilidad, por denuncias y operativos, entre otras necesarias para el resguardo de la salud pública.

Anexo Definiciones

Alimentos aptos para consumo humano: Alimentos que cumplen con los criterios de calidad sanitaria e inocuidad establecidos por la norma sanitaria, cuyo consumo no causará daño a la salud del consumidor.

Alimento o Bebida: Toda sustancia elaborada, semielaborada o en bruto, que se destina al consumo humano, incluidas las bebidas, el chicle y cualesquiera otras sustancias que se utilicen en la elaboración, preparación o tratamiento de "alimentos", pero no incluye los cosméticos, el tabaco ni las sustancias que se utilizan únicamente como medicamentos.

Alimentos para regímenes especiales: Alimentos elaborados o preparados especialmente para satisfacer necesidades determinadas por condiciones físicas o fisiológicas particulares. La composición de esos alimentos es fundamentalmente diferente de la composición de los alimentos ordinarios de naturaleza análoga. Están incluidos los alimentos infantiles, los destinados a Programas Sociales de Alimentación (PSA), alimentos dietéticos.

Alimento ácido: Todo alimento cuyo pH natural sea de 4,6 o menor.

Alimentos de baja acidez: Todo alimento, excepto las bebidas alcohólicas, en el que uno de los componentes tenga un pH mayor de 4,6 y una actividad de agua mayor de 0,85.

Alimento de baja acidez acidificado: Todo alimento que haya sido tratado para obtener un pH de equilibrio de 4,6 o menor, después del tratamiento térmico.

Calidad Sanitaria: Es el conjunto de requisitos microbiológicos, fisico-químicos y organolépticos que debe reunir un alimento para ser considerado apto para el consumo Humano.

Alimento en conserva: Alimento comercialmente estéril y envasado en recipientes herméticamente cerrados.

Criterio microbiológico: Define la aceptabilidad de un producto o un lote de un alimento basada en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, por unidad de masa, volumen, superficie o lote.

Esterilidad Comercial: Condición de un alimento procesado térmicamente obtenida por:

- (i) Aplicación de calor que hace que el alimento esté libre de: (a) Microorganismos capaces de reproducirse en el alimento bajo condiciones normales de almacenamiento y distribución no refrigeradas; y (b) Microorganismos viables (incluyendo esporas) de importancia para la salud pública; o
- (ii) Control de la actividad de agua y la aplicación de calor, que hace que el alimento esté libre de microorganismos capaces de reproducirse en el mismo, bajo condiciones normales (no refrigeradas) de almacenamiento y distribución.

Hortaliza: Es el componente comestible de una planta que incluye, tallos, raíces, tubérculos, bulbos, flores y semillas.

Inocuidad: Garantía de que los alimentos no causaran daño al consumidor cuando se preparen y consuman de acuerdo con el uso a que se destinan.

Jalea real: Es una secreción fluida que elaboran las abejas obreras en sus glándulas faríngeas a partir de miel, néctar y agua que recogen del exterior, mezclándola con saliva, hormonas y

vitaminas en su interior. El producto se presenta como una emulsión semifluida, de color blancuzco o blanco amarillento, de sabor ácido ligeramente picante, absolutamente no dulce, de olor fenólico y con reacción claramente ácida (pH 3,5-4,5). La utilizan para alimentar a las larvas de la colmena durante sus tres primeros días de edad y a la reina durante toda su vida.

Leche UHT (Ultra High Temperature) o UAT (Ultra Alta Temperatura) o Leche larga vida: Es el producto obtenido mediante proceso térmico en flujo continuo a una temperatura entre 135 °C a 150 °C y tiempos entre 2 a 4 segundos, aplicado a la leche cruda o termizada, de tal forma que se compruebe la destrucción eficaz de las esporas bacterianas resistentes al calor, seguido inmediatamente de enfriamiento a temperatura ambiente y envasado aséptico en recipientes estériles con barreras a la luz y al oxígeno, cerrados herméticamente, para su posterior almacenamiento, con el fin de que se asegure la esterilidad comercial sin alterar de manera esencial ni su valor nutritivo ni sus características fisicoquímicas y organolépticas, la cual puede ser comercializada a temperatura ambiente.

Leche ultrapasteurizada: Es el producto obtenido mediante proceso térmico en flujo continuo con una combinación de temperatura entre 135 °C a 150 °C y tiempos entre 2 a 4 segundos, aplicado a la leche cruda o termizada, seguido inmediatamente de enfriamiento hasta la temperatura de refrigeración y envasado en condiciones de alta higiene, en recipientes previamente higienizados y cerrados herméticamente, de tal manera que se asegure la inocuidad microbiológica del producto sin alterar de manera esencial ni su valor nutritivo, ni sus características fisicoquímicas y organolépticas, la cual deberá ser comercializada bajo condiciones de refrigeración.

Lote: Es una cantidad determinada de producto, supuestamente elaborado en condiciones esencialmente iguales cuyos envases tienen, normalmente, un código de lote que identifica la producción durante un intervalo de tiempo definido, habitualmente de una línea de producción, de un autoclave u otra unidad crítica de procesado. En el sentido estadístico, un lote se considera como un conjunto de unidades de un producto del que tiene que tomarse una muestra para determinar la aceptabilidad del mismo.

Miel: Sustancia dulce natural producida por las abejas obreras a partir del néctar o exudaciones de otras partes vivas de las flores o presentes en ella, que dichas abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, almacenan y dejan en los panales para que sazone. La miel se compone esencialmente de diferentes azúcares, predominantemente glucosa y fructosa; su color varía de casi incoloro a pardo oscuro y su consistencia puede ser fluida, viscosa o cristalizada, total o parcialmente. Su sabor y aroma reproducen generalmente los de la planta de la cual proceden.

Pasteurización: Tratamiento térmico aplicado para conseguir la destrucción de microorganismos sensibles al calor; se emplean temperaturas inferiores a 100° C, suficientes para destruir las formas vegetativas de un buen número de microorganismos patógenos y saprofitos. Las bacterias esporuladas y otras denominadas termoresistentes, normalmente sobreviven a este proceso. El proceso de pasteurización no es sinónimo de esterilización, porque no destruye a todos los microorganismos. Muchos alimentos, como bebidas, se pasteurizan; la leche es el ejemplo más clásico, su caducidad es corta y requieren ser conservados en frío.

Plan de muestreo: Establecimiento de criterios de aceptación que se aplican a un lote, basándose en el análisis microbiológico de un número requerido de unidades de muestra. Un plan de muestreo define la probabilidad de detección de microorganismos en un lote. Se deberá considerar que un plan de muestreo no asegura la ausencia de un determinado organismo.

Riesgo: Función de probabilidad de que se produzca un efecto adverso para la salud y de la gravedad de dicho efecto, como consecuencia de la presencia de un peligro o peligros en los alimentos.

Anexo N° 4: ficha de recolección de datos de ensayos organoléptico y fisicoquímica de la miel de abeja multifloral

Responsables:

Laboratorio:

Fecha:

| EVALUACION FISICOQUÍMICOS | | | | |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| PARÁMETROS | PRUEBA N°1 | PRUEBA N°2 | PRUEBA N°3 | RESULTADO |
| DENSIDAD | | | | |
| HUMEDAD | | | | |
| PH | | | | |
| CENIZA | | | | |
| ACIDEZ TOTAL | | | | |
| GLUCOSA, FRUCTOSA | | | | |
| HIDROXIMETILFURFURAL | | | | |

Anexo N° 5: resultados de análisis fisicoquímico



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS

Av. de la Cultura 733 - Pabellón "C" Of. 106 1er. piso - Telefax: 224831 - Apartado Postal 921 - Cusco Perú



UNIDAD DE PRESTACIÓN DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICO
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA

INFORME DE ANÁLISIS

Nº0557-23-LAQ

SOLICITANTE : ISaura ACHAHUI CHUCTAYA
ALEXANDER HUAMAN QUISPE

MUESTRA : MIEL
1.- MIEL DE EUCALIPTO
2.- MIEL MULTIFLORAL

FECHA : C/21/12/2023

ANALISIS FISICOQUIMICO:

| | MIEL EUCALIPTO | MIEL MULTIFLORAL |
|----------------------------|-------------------|---------------------|
| Humedad % | 15,98 | 16,58 |
| Ceniza % | 0,03 | 0,06 |
| Acidez Total meq/100 | 25,09 | 9,06 |
| Hidroximetilfurfural m/100 | 0,62 | 1,88 |
| Densidad Relativa 27°C | 1,44 | 1,42 |

Métodos: AOAC 962.37, AOAC 920.181, AOAC 729.52, AOAC 980.23 Y AOAC 962.37

Cusco, 29 de Diciembre 2023

 Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco
Unidad de Prestación de Servicios de Análisis
Melquiades Herreva Articulo
RESPONSABLE DEL LABORATORIO
DE ANÁLISIS QUÍMICO

Anexo N° 6: Resultados de análisis fisicoquímico de glucosa y fructosa



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
 FACULTAD DE CIENCIAS
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ contacto 973668855

RESULTADOS

Cusco 08 de Enero 2023 ⁰²

Solicitantes : Isaura Achau Chuctaya, Alexander Quispe Human
 Tipo de Análisis : Cuantificación de Carbohidratos
 Método : Cromatografía Líquida HPLC
 Tipo de Muestras : Miel Eucalipto y Multifloral
 Cantidad de Muestra : 2 frascos de vidrio con 50 gr aprox de cada uno
 Almacenamiento : 4 °C.

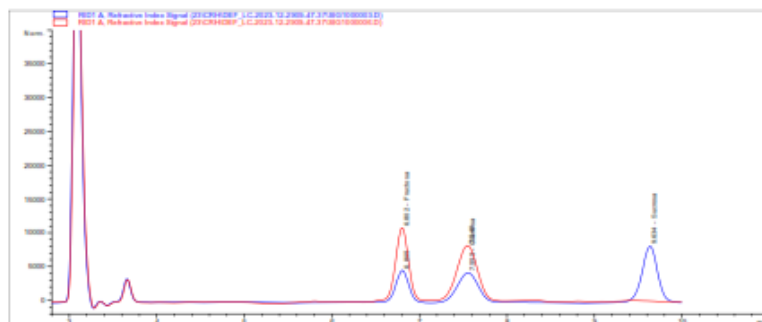
| Miel Eucalipto | TR min | Repeticiones | | | Promedio |
|----------------|--------|--------------|----------|----------|----------|
| | | 1 | 2 | 3 | % |
| Fructosa | 6.81 | 31.93259 | 32.54249 | 32.39524 | 32.29 |
| Glucosa | 7.561 | 45.66203 | 45.99770 | 44.34218 | 45.33 |

| Miel Multifloral | TR min | Repeticiones | | | Promedio |
|------------------|--------|--------------|----------|----------|----------|
| | | 1 | 2 | 3 | % |
| Fructosa | 6.805 | 26.80874 | 27.18450 | 26.58297 | 26.86 |
| Glucosa | 7.55 | 26.57544 | 27.40131 | 27.09805 | 27.02 |

TR = Tiempo de retención en minutos (cromatograma)

Nota: Se ha detectado Fructosa y Glucosa, la cuantificación se realizó mediante una curva de calibración multinivel de los estándares de Fructosa y Glucosa, el contenido se reporta como porcentaje presentes en la muestra.

Cromatograma



Azul = Estándar
 Rojo = Muestra



Químico, Jorge Choquenaira Pari
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y
 Espectrometría – UNSAAC,
 CQP - 914



COMISION DE REGLAMENTOS TECNICOS Y COMERCIALES

NORMA TECNICA PERUANA

PREFACIO

A. RESEÑA HISTÓRICA

A.1 La presente Norma Técnica Peruana NTP fue elaborado por el Comité Técnico de Normalización Especializado de Miel, mediante el Sistema 4 de revisión utilizando el Sistema 1 de adopción, durante los meses de mayo a junio de 1999, utilizó como antecedente la Norma Técnica del Codex Alimentarius CODEX STAN 12-1981, Rev. 1 (1987) Miel.

A.2 El Comité Técnico Especializado de Miel, presentó a la Comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales - CRT, con fecha 99-09-30, el PNTP 209.168: 1999 para su revisión y aprobación; oficializándose como Norma Técnica Peruana NTP 209.168: 1999 MIEL. Definiciones, requisitos y rotulado, 2ª Edición el 4 de noviembre de 1999.

A.3 La NTP 209.168: 1999 reemplaza a la NTP 209.168: 1980. Esta norma presenta cambios editoriales referidos principalmente a terminología y ha sido estructurada de acuerdo a las Guías Peruanas GP 001:1995 y GP 002:1995.

B. INSTITUCIONES QUE PARTICIPARON EN LA ELABORACIÓN DE LA NORMA TÉCNICA PERUANA

SECRETARÍA

INDECOPI
Liliana Herrera
Patricia Castro
Carmela Morgan

SECRETARIO

Agustín Martos

ENTIDAD

REPRESENTANTE

A y A ABEJAS S.A.C

Haydeé González

AGROPEC OXAMPAMPA EIRL

Helmut Witting

| | |
|--|--------------------------------------|
| AMADEO CABALLERO CAMARENA | Amadeo Caballero Amelia Caballero |
| APÍCOLA ABEJAS JUNGBLUTH | Hans Jungbluth |
| ASOCIACIÓN DE ÁPICULTORES DEL PERÚ | Francisco García |
| ASPEC | Cecilia Mendiola Alicia Román |
| CENAN | Ana María Vera Nancy Carhuacho |
| CERPER | Claudia Alzamora |
| DERIVADOS DEL MAÍZ- DEMSA | Tomás Rossell Mario Fung |
| DIGESA | Abraham Lingán Mónica Sarmiento |
| INASSA | Celso Bazán |
| LA MOLINA CALIDAD TOTAL | Luis Villegas |
| MIELES NATURALES SRL | César Cuglievan |
| MINISTERIO DE AGRICULTURA | José Yi Leonardo Adriazola |
| MINISTERIO DE INDUSTRIA TURISMO, INTEGRACIÓN Y NEGOCIACIONES COMERCIALES INTERNACIONALES | Raúl Flores |
| NARBASA EIRL | Ricardo Narvaez |
| SAT | Cecilia Falla |
| SGS del PERÚ | Juan Carlos Balbín |
| SOCIEDAD AGROCOMERCIAL DEL PERÚ | Juan Carlos Fernández |
| UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA | Mónica Narrea |

MIEL. Definiciones, requisitos y rotulado

1. OBJETO

Esta Norma Técnica Peruana establece las definiciones y requisitos que debe cumplir la miel destinada al consumo humano.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Las siguientes normas contienen disposiciones que al ser citadas en este texto, constituyen requisitos de esta Norma Técnica Peruana. Las ediciones indicadas estaban en vigencia en el momento de esta publicación. Como toda norma está sujeta a revisión, se recomienda a aquellos que realicen acuerdos en base a ellas, que analicen la conveniencia de usar las ediciones recientes de las normas citadas seguidamente. El Organismo Peruano de Normalización posee la información de las Normas Técnicas Peruanas en vigencia en todo momento.

Normas Técnicas Peruanas

| | | |
|-----|--------------------------|--|
| 2.1 | NTP 209.172: 1999 | MIEL. Determinación del contenido de azúcar reductor. |
| 2.2 | NTP 209.171: 1999 | MIEL. Determinación del contenido de humedad. |
| 2.3 | NTP 209.173: 1999 | MIEL. Determinación del contenido aparente de sacarosa. |
| 2.4 | NTP 209.178: 1999 | MIEL. Determinación del contenido de sólidos insolubles en agua. |

| | | |
|-----|--------------------------|--|
| 2.5 | NTP 209.175: 1999 | MIEL. Determinación del contenido de sustancias minerales (cenizas). |
| 2.6 | NTP 209.174: 1999 | MIEL. Determinación de la acidez. |
| 2.7 | NTP 209.177: 1999 | MIEL. Determinación de la actividad de la diastasa. |
| 2.8 | NTP 209.176: 1999 | MIEL. Determinación de Hidroximetilfurfural. Método espectrofotométrico |
| 2.9 | NTP 209.038: 1994 | ALIMENTOS ENVASADOS. Rotulado |

3. CAMPO DE APLICACIÓN

3.1 Esta Norma Técnica Peruana se aplica a todas las mieles así como a todas las formas de presentación de la miel que se ofrecen para el consumo directo.

3.2 Esta Norma Técnica Peruana se aplica también a la miel envasada (a granel) no destinada a la venta al por menor y a la miel destinada al reenvasado para la venta al por menor.

4. DEFINICIONES

4.1 **miel:** Es la sustancia dulce natural producida por abejas obreras a partir del néctar de las flores, secreciones de partes vivas de las plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las plantas; que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje.

La miel se compone esencialmente de diferentes azúcares, predominantemente glucosa y fructuosa. El color de la miel varía desde casi incoloro a pardo oscuro. Su consistencia puede ser fluida, viscosa, total o parcialmente cristalizada. El sabor y el aroma varían, pero en general posee los de la planta de que procede.

4.2 Otras definiciones y denominaciones

Según su origen

4.2.1 **miel de flores o néctar:** Es la que procede principalmente de los néctares de las flores.

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

Según el método de elaboración

4.2.3 **miel centrifugada:** Es la obtenida mediante la centrifugación de los panales desoperculados, sin larvas.

4.2.4 **miel prensada:** Es la obtenida mediante la compresión de los panales, sin larvas, con o sin aplicación de calor moderado.

4.2.5 **miel escurrida:** Es la obtenida mediante el drenaje de los panales desoperculados, sin larvas.

Según su presentación

4.2.6 La miel que satisface todos los requisitos establecidos en el capítulo 5 de esta NTP, puede ser presentada de las siguientes formas:

- a) **miel:** Miel en estado líquido o cristalizado o una mezcla de ambas;
- b) **miel en panal:** Miel almacenada por la abejas en panales recién construidos, sin larvas, y vendida en panales enteros cerrados o secciones de tales panales;
- c) **miel en trozos:** Miel que contiene uno o más trozos de panales con miel;
- d) **miel cristalizada o granulada:** Miel que ha experimentado un proceso natural de solidificación como consecuencia de la cristalización de la glucosa;
- e) **miel cremosa (o montada):** Miel que tiene una estructura cristalina fina y que puede haber sido sometida a un proceso físico que le confiera esa estructura y que la haga fácil de untar.

5. REQUISITOS

5.1 La miel no deberá tener ningún sabor, aroma o contaminación inaceptable (véase 7.2 y 7.3) que haya sido absorbida de una materia extraña durante su elaboración y almacenamiento. La miel no deberá haber comenzado a fermentar o producir efervescencia.

5.2 La miel no deberá calentarse en medida tal que se menoscabe su composición y calidad esenciales.

5.3 **Contenido aparente de azúcar reductor, calculado como azúcar invertido:**

- | | |
|--|------------------|
| a) Mieles no indicadas a continuación | 65 % como mínimo |
| b) Miel de mielada | 60 % como mínimo |
| c) "Blackboy" (<i>Xanthorrhoea preissii</i>) | 53 % como mínimo |

5.4 Contenido de humedad:

- | | | |
|----|-------------------------------------|------------------|
| a) | Mieles no indicadas a continuación | 21 % como máximo |
| b) | Miel de brezo (<i>Calluna</i>) | 23 % como máximo |
| c) | Miel de trébol (<i>Trifolium</i>) | 23 % como máximo |

5.5 Contenido aparente de sacarosa:

- | | | |
|----|--|------------------|
| a) | Mieles no indicadas a continuación | 5 % como máximo |
| b) | Miel de mielada, mezclas de miel de mielada y miel de flores, Robinia, espliego, Citrus, Alfalfa, meliloto, "Red Gum" (<i>Eucalyptus camaldulensis</i>), Acacia "Leatherwood" (<i>Eucryphia lucinda</i>), "Menzies Banksia" (<i>Banksia menziesii</i>) | 10 % como máximo |
| c) | "Red Bell" (<i>Calothamnus sanguineus</i>) "White stringy bark" (<i>Eucalyptus scabra</i>), "Grand Banksia" (<i>Banksia grandis</i>), "Blackboy" (<i>Xanthorrhoea preissii</i>) | 15 % como máximo |

5.6 Contenido de sólidos insolubles en agua:

- | | | |
|----|--------------------------------------|-------------------|
| a) | Mieles distintas de la miel prensada | 0,1 % como máximo |
| b) | Miel prensada | 0,5 % como máximo |

5.7 Contenido de sustancias minerales (cenizas):

- | | | |
|----|--|-------------------|
| a) | Mieles no indicadas a continuación | 0,6 % como máximo |
| b) | Miel de mielada o una mezcla de miel de mielada y miel de flores | 1,0 % como máximo |

5.8 Acidez: 40 miliequivalentes de ácido por 1000 gramos como máximo

5.9 Actividad de la diastasa: 3 como mínimo
(Determinada después de elaborada y mezclada de acuerdo con el capítulo 9)

5.10 Contenido de hidroximetilfurfural: 80 mg/kg como máximo

6. ADITIVOS ALIMENTARIOS

No se permite ninguno

7. HIGIENE

7.1 Se recomienda que los productos incluidos en las disposiciones de este NTP se preparen de conformidad con las secciones pertinentes del Código Internacional Recomendado de Prácticas - Principios Generales de Higiene de los Alimentos (CAC/RCP 1 - 1969, Rev. 2 (1985), Volumen 1 del Codex Alimentarius).

7.2 La miel que se ponga a la venta al por menor o que se utilice en cualquier producto para consumo humano deberá estar exenta de moho visible y de sustancias

inorgánicas y orgánicas extrañas a su composición, tales como insectos, restos de insectos, larvas o granos de araña.

7.3 La miel no deberá contener sustancias tóxicas que deriven de microorganismos o plantas en cantidades que puedan constituir un peligro para la salud.

8. ROTULADO

Además de las disposiciones de la NTP 209.038, se aplicarán las siguientes disposiciones específicas:

8.1 Nombre del alimento

8.1.1 Con la sujeción a las disposiciones que figuran en el apartado 8.1.4, los productos que satisfagan las disposiciones de la norma deberán ser designados con el término "miel".

8.1.2 Ninguna miel podrá designarse con una de las denominaciones que figuran en el apartado 4.2, a menos que se ajuste a la descripción correspondiente que figura en dicho párrafo. Se indicarán las formas de presentación descritas en el apartado 4.2.6 b), c), d) y e).

8.1.3 La miel podrá designarse con el nombre de la región geográfica o topográfica, si ha sido producida exclusivamente en el área a que se refiere la denominación.

8.1.4 La miel podrá designarse de acuerdo con su origen, ya sea éste floral o de plantas, si procede total o principalmente de esas fuentes en particular y si posee las propiedades organolépticas, fisicoquímicas y microscópicas que corresponden a dicho origen.

8.1.5 La miel que satisfaga las disposiciones de los apartados 5.3. b) y c), 5.4 b) y 5.5 b) y c) llevará muy cerca de la palabra "miel" el nombre común o el nombre botánico de la fuente o las fuentes florales.

8.2 Rotulado de envases no destinados a la venta al por menor

Además de los capítulos 4, 5 y 6.12.1.3 de la NTP 209.038, se aplicarán las disposiciones específicas siguientes:

8.2.1 La información sobre rotulado que se especifica en este capítulo se facilitará ya sea en el envase o en los documentos que lo acompañan, salvo que el nombre del producto, la identificación del lote, y el nombre y la dirección del fabricante o envasador aparezcan en el envase.

8.2.2 La identificación del lote, y el nombre y la dirección del fabricante o del envasador, podrán ser sustituidos por una señal de identificación, a condición de que dicha señal pueda identificarse claramente con los documentos que acompañan al envase.

8.2.3 Los embalajes que contengan alimentos envasados en unidades pequeñas (véase el apartado 6.10 de la NTP 209.038) deberán estar rotulado cabalmente.

9. MÉTODOS DE ANÁLISIS

Véase el capítulo 2 de la presente Norma Técnica Peruana.

10. ANTECEDENTE

CODEX STAN 12:1981 NORMA DEL CODEX PARA LA MIEL

Anexo N° 8: Ficha de recolección de datos de polifenoles totales por espectrofotómetro UV

Lugar:

Responsables:

Temperatura:

Fecha:

| N° | CONC (µG/ML) | ACIDO GÁLICO (0.2 MG/ML) | METANOL 80%(µL) | FOLIN CIUCALTEU 10% | CARBONAT DE SODIO 7.5 % | VOLUMEN TOTAL(µL) | ABSORBANCIA | | | PROMEDIO |
|----|--------------|--------------------------|-----------------|---------------------|-------------------------|-------------------|-------------|--|--|----------|
| | | | | | | | | | | |
| 1 | blanco | 0 µl | 1000 µl | 5000 µl | 4000 µl | 10000 µl | | | | |
| 2 | 1 µg/ml | 50 µl | 950 µl | 5000 µl | 4000 µl | 10000 µl | | | | |
| 3 | 3 µg/ml | 150 µl | 850 µl | 5000 µl | 4000 µl | 10000 µl | | | | |
| 4 | 4 µg/ml | 250 µl | 750 µl | 5000 µl | 4000 µl | 10000 µl | | | | |
| 5 | 7 µg/ml | 350 µl | 650 µl | 5000 µl | 4000 µl | 10000 µl | | | | |
| 6 | 9 µg/ml | 450 µl | 550 µl | 5000 µl | 4000 µl | 10000 µl | | | | |
| 7 | Mm | | | 5000 µl | 4000 µl | 10000 µl | | | | |
| 8 | Me | | | 5000 µl | 4001 µl | 10000 µl | | | | |

Observaciones:

Anexo N° 9: ficha de recolección de datos de flavonoides totales por espectrofotómetro UV

Lugar:

Responsables:




Temperatura:

Fecha:

| N° | Concentración (µg/mL) | quercetina de 0.05 mg/mL | METANOL 80%(µL) | Cloruro de aluminio 20 % | Ácido acético 50% | Volumen total(µL) | ABSORBANCIA | | | PROMEDIO |
|----|-----------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------|--|--|----------|
| | | | | | | | | | | |
| 1 | blanco | 0 µL | 1000 µL | 1000 µL | 100 µL | 2100 µL | | | | |
| 2 | 0.7142 µg/mL | 30 µL | 970 µL | 1000 µL | 100 µL | 2100 µL | | | | |
| 3 | 1.1905 µg/mL | 50 µL | 950 µL | 1000 µL | 100 µL | 2100 µL | | | | |
| 4 | 2.3810 µg/mL | 100 µL | 900 µL | 1000 µL | 100 µL | 2100 µL | | | | |
| 5 | 3.5714 µg/mL | 150 µL | 850 µL | 1000 µL | 100 µL | 2100 µL | | | | |
| 6 | 5.9524 µg/mL | 250 µL | 750 µL | 1000 µL | 100 µL | 2100 µL | | | | |
| 7 | 8.3333 µg/mL | 350 µL | 650 µL | 1000 µL | 100 µL | 2100 µL | | | | |
| 8 | Me | | | 1000 µL | 100 µL | 2100 µL | | | | |
| 8 | Me | | | 1000 µL | 100 µL | 2100 µL | | | | |

Observaciones:

Anexo N° 10: Resultados de análisis de DPPH

|  UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO FACULTAD DE CIENCIAS LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868555 | | | | | | | | | |
|--|--|-------|-------|-------|-------|---------------------|-----------------------|--------|--|
| RESULTADOS | | | | | | | | | |
| Cusco, 15 de Marzo del 2023 ^{A-10} | | | | | | | | | |
| Solicitantes | : Isaura Achahui Chuctaya y Alexander Quispe Human | | | | | | | | |
| Tipo de Análisis | : Determinación Capacidad Antioxidante | | | | | | | | |
| Métodos | : Colorimétrico DPPH | | | | | | | | |
| Tipo de Muestras | : Miel Multifloral y Miel de Eucalipto | | | | | | | | |
| Cantidad de Muestra | : 2 | | | | | | | | |
| Almacenamiento | : 4 °C. | | | | | | | | |
| Muestra | Repeticiones | | | | | Promedio | | % Inhb | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Trolox CI50 mg/100g | Trolox CI50 umol/100g | | |
| Miel de Eucalipto | 2.549 | 2.468 | 2.459 | 2.425 | 2.468 | 2.47 | 25.0 | 77.9 | |
| Miel Multifloral | 3.504 | 3.490 | 3.495 | 3.497 | 3.503 | 3.50 | 95.4 | 46.9 | |
| Condiciones de Análisis por Espectrofotómetro Equipo : Espectrofotómetro Génesis 20 Thermo Electrón Longitud de Onda : 517 nm Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm Ecuación de la curva patrón : $y = 0.0592x + 0.0206$, $R^2 = 0.9914$ | | | | | | | | | |
| Nota: Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante expresa el Coeficiente de Inhibición al 50% (CI ₅₀ o IC ₅₀) en mg, μ moles equivalentes Trolox que están presente en 100 gramos de muestra, los valores bajos poseen mayor actividad antioxidante ^{2,6} , se incluye el porcentaje de actividad antioxidante en el extracto obtenido. | | | | | | | | | |
| Referencia consultada 1. Brand-Williams W., M. Cuvelier and C. Berset; (1997) Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, <i>Lebensm. Wiss. U. Technol.</i> 28, 25-30. 2. Matuszewska, A., Jaszek, M., Stefaniuk, D., Ciszewski, T., & Matuszewski, L. (2018). Anticancer, antioxidant, and antibacterial activities of low molecular weight bioactive subfractions isolated from cultures of wood degrading fungus <i>Cerrena unicolor</i> . <i>PLOS ONE</i> , 13(6), e0197044. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197044 3. Norul Liza A-Rahaman, Lee Suan Chua, Mohamad Roji Sarmidi, Ramlan Aziz (2013) Physicochemical and radical scavenging activities of honey samples from Malaysia <i>Agricultural Sciences</i> Vol.4, No.5B, 46-51. 4. Philip Molyneux 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity <i>Songklanakarin J. Sci. Technol.</i> , 26(2) : 211-219. 5. Pugliese A.G, Francisco A. Tomas-Barberan, Pilar Truchado, Maria I. Genovese, Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of <i>Theobroma grandiflorum</i> (Cupuassu) Pulp and Seeds <i>J Agric Food Chem.</i> 2013 Mar 20;61(11):2720-8. doi: 10.1021/jf304349u. 6. Zhang, X., Yu, Y., Cen, Y., Yang, D., Qi, Z., Hou, Z., Han, S., Cai, Z., & Liu, K. (2018). Bivariate Correlation Analysis of the Chemometric Profiles of Chinese Wild <i>Salvia miltiorrhiza</i> Based on UPLC-Qq-MS and Antioxidant Activities. <i>Molecules</i> , 23(3), 538. https://doi.org/10.3390/molecules23030538 | | | | | | | | | |
|   Químico Jorge Chequenaira Pari Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría - UNSAAC. CQP - 914 | | | | | | | | | |

Anexo N° 11: Ficha de recolección de datos de Concentración mínima inhibitoria o bacteriostático (CMI) y Concentración mínima bactericida (CMB) de la miel de abeja in vitro frente a cepa de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.

Responsables:

Fecha:

Laboratorio:

| Concentración mínima inhibitoria o bacteriostático (CMI) para la miel de abeja multiflora | | | | | | | | | | | |
|---|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--------------------------|-----------------------|
| Actividad bacteriostática (turbidez) | repetición | 25% | 40% | 50% | 60% | 70% | 80% | 90% | 100% | control (caldo bacteria) | y blanco (caldo puro) |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> 24 horas | 1 | | | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | | | |
| | Resultado | | | | | | | | | | |
| Concentración mínima bactericida (CMB) para la miel de abeja multiflora | | | | | | | | | | | |
| Actividad bactericida (placa) | repetición | 25% | 40% | 50% | 60% | 70% | 80% | 90% | 100% | control (caldo bacteria) | y blanco (caldo puro) |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> 24 horas | 1 | | | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | | | |
| | Resultado | | | | | | | | | | |

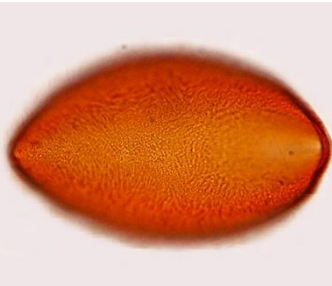
Anexo N° 12: Especies de flores encontrados en el estudio de análisis polínico de la colmena de la localidad de Huarán Calca Cusco según el autor Raúl Yuca Rivas.

Cusco, PERÚ

Raúl Yuca-Rivas



1 *Alstroemeria aurea*
ALSTROEMERIACEAE



2 *Alstroemeria aurea* (VPx)
ALSTROEMERIACEAE



3 *Alstroemeria aurea* (VL)
ALSTROEMERIACEAE

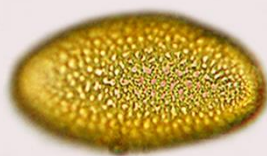


4 *Alstroemeria aurea* (C)
ALSTROEMERIACEAE

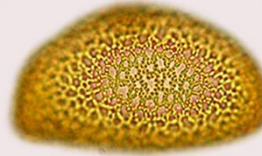
10 µm



5 *Bomarea formosissima*
ALSTROEMERIACEAE



6 *Bomarea formosissima* (VPx)
ALSTROEMERIACEAE



7 *Bomarea formosissima* (VL)
ALSTROEMERIACEAE



8 *Bomarea formosissima* (C)
ALSTROEMERIACEAE

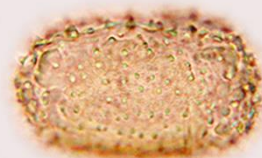
10 µm



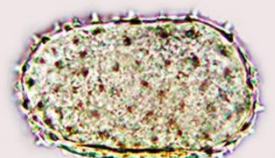
9 *Commelina fasciculata*
COMMELINACEAE



10 *Commelina fasciculata* (VPx)
COMMELINACEAE



11 *Commelina fasciculata* (VL)
COMMELINACEAE



12 *Commelina fasciculata* (C)
COMMELINACEAE

10 µm



13 *Zea mays*
POACEAE



14 *Zea mays* (Detalle de la abertura)
POACEAE



15 *Zea mays* (VD oblicua)
POACEAE

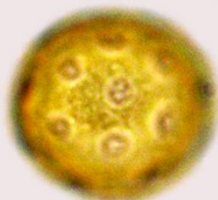


16 *Zea mays* (C)
POACEAE

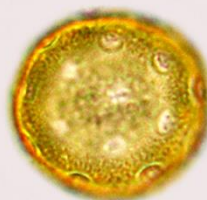
10 µm



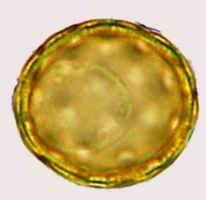
17 *Amaranthus powellii*
AMARANTHACEAE



18 *Amaranthus powellii*
AMARANTHACEAE



19 *Amaranthus powellii*
AMARANTHACEAE



20 *Amaranthus powellii* (C)
AMARANTHACEAE

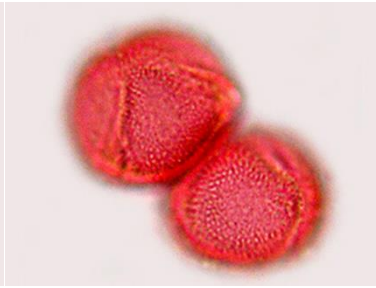
10 µm



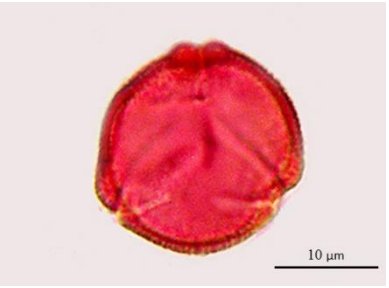
21 *Schinus molle*
ANACARDIACEAE



22 *Schinus molle* (VP)
ANACARDIACEAE



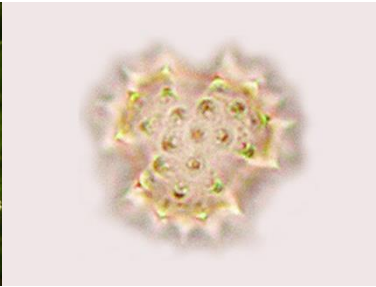
23 *Schinus molle* (VE)
ANACARDIACEAE



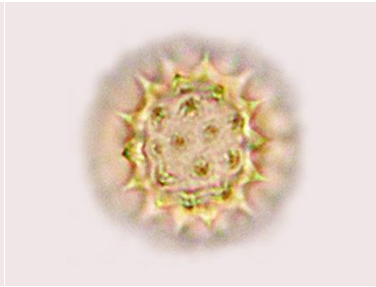
24 *Schinus molle* (C)
ANACARDIACEAE



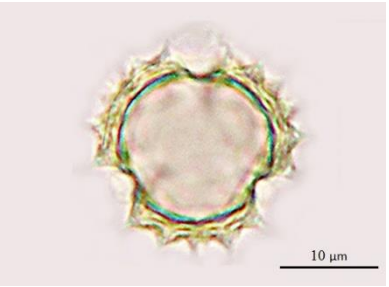
25 *Ageratina sternbergiana*
ASTERACEAE



26 *Ageratina sternbergiana* (VP)
ASTERACEAE



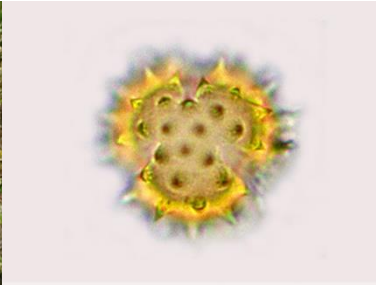
27 *Ageratina sternbergiana* (VE)
ASTERACEAE



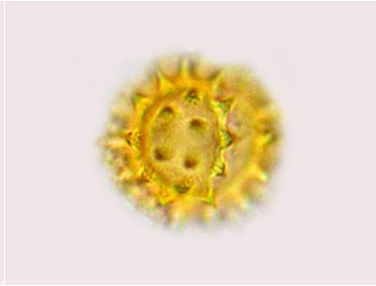
28 *Ageratina sternbergiana* (C)
ASTERACEAE



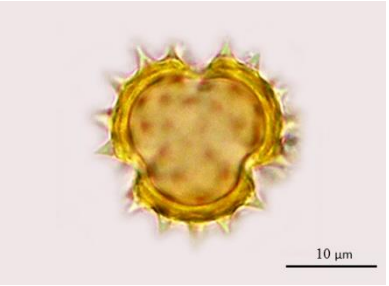
29 *Baccharis latifolia*
ASTERACEAE



30 *Baccharis latifolia* (VP)
ASTERACEAE



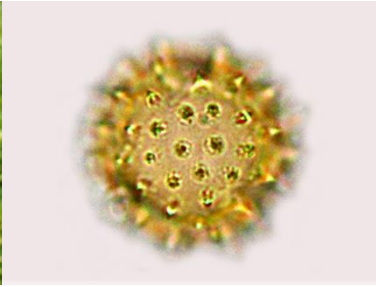
31 *Baccharis latifolia* (VE)
ASTERACEAE



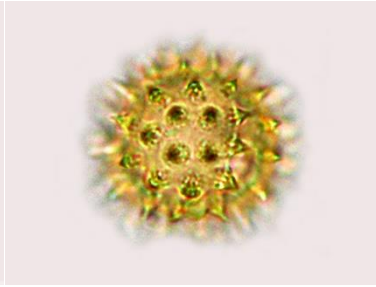
32 *Baccharis latifolia* (C)
ASTERACEAE



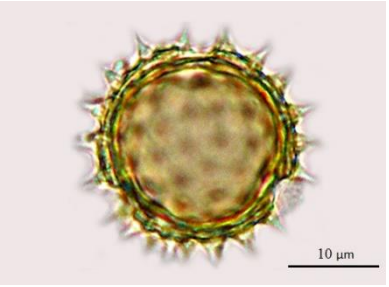
33 *Bidens pilosa*
ASTERACEAE



34 *Bidens pilosa* (VP)
ASTERACEAE



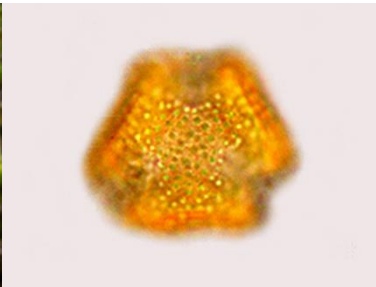
35 *Bidens pilosa* (VE)
ASTERACEAE



36 *Bidens pilosa* (C)
ASTERACEAE



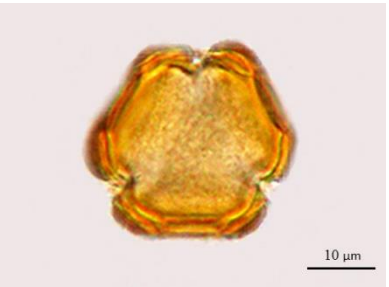
37 *Dasyphyllum leioccephalum*
ASTERACEAE



38 *Dasyphyllum leioccephalum*
(VP)
ASTERACEAE



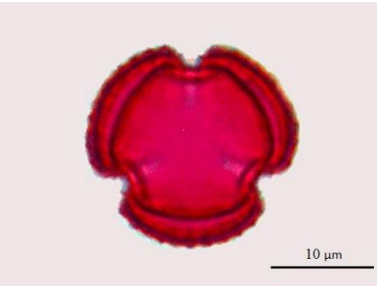
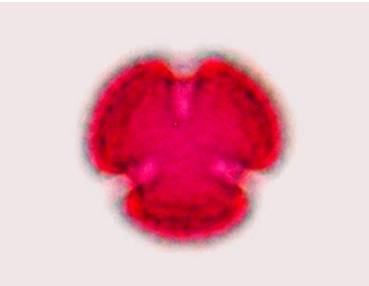
39 *Dasyphyllum leioccephalum*
(VE)
ASTERACEAE



40 *Dasyphyllum leioccephalum*
(C)
ASTERACEAE

Cusco, PERÚ

Raúl Yuca-Rivas

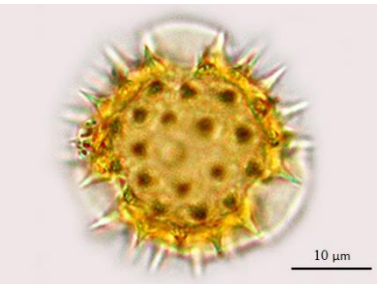
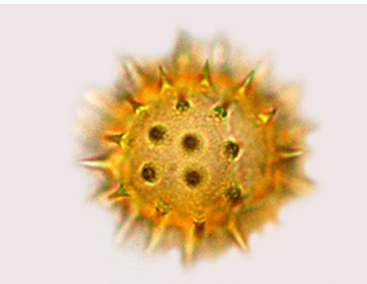
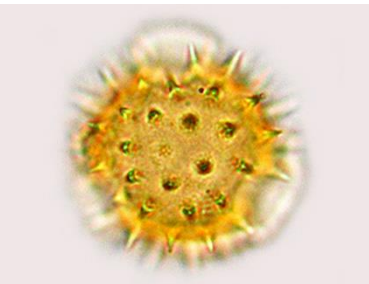


41 *Ophryosporus peruvianus*
ASTERACEAE

42 *Ophryosporus peruvianus* (VP)
ASTERACEAE

43 *Ophryosporus peruvianus* (VE)
ASTERACEAE

44 *Ophryosporus peruvianus* (C)
ASTERACEAE

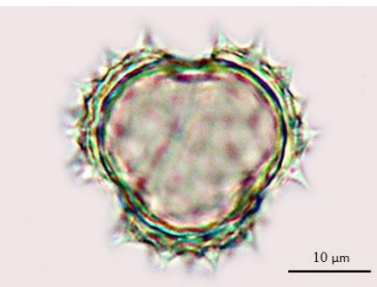
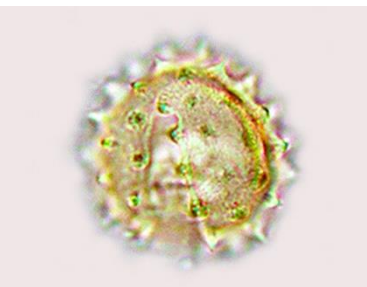
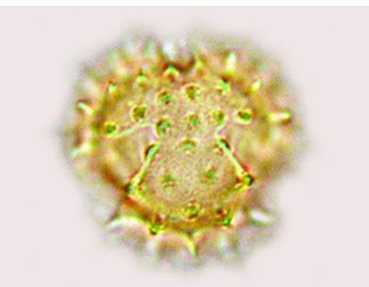


45 *Sigesbeckia jorullensis*
ASTERACEAE

46 *Sigesbeckia jorullensis* (VP)
ASTERACEAE

47 *Sigesbeckia jorullensis* (VE)
ASTERACEAE

48 *Sigesbeckia jorullensis* (C)
ASTERACEAE

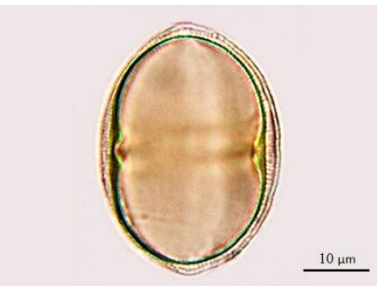


49 *Stevia cuzcoensis*
ASTERACEAE

50 *Stevia cuzcoensis* (VP)
ASTERACEAE

51 *Stevia cuzcoensis* (VE)
ASTERACEAE

52 *Stevia cuzcoensis* (C)
ASTERACEAE

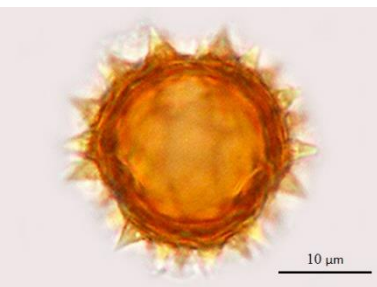
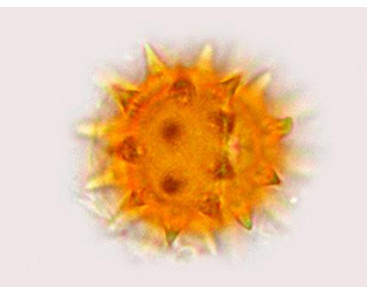
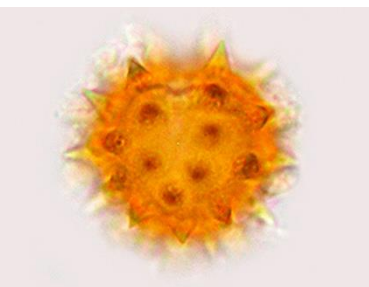


53 *Trixis divaricata*
ASTERACEAE

54 *Trixis divaricata* (VP)
ASTERACEAE

55 *Trixis divaricata* (VE)
ASTERACEAE

56 *Trixis divaricata* (C)
ASTERACEAE



57 *Verbesina auriculigera*
ASTERACEAE

58 *Verbesina auriculigera* (VP)
ASTERACEAE

59 *Verbesina auriculigera* (VE)
ASTERACEAE

60 *Verbesina auriculigera* (C)
ASTERACEAE

Cusco, PERÚ

Raúl Yuca-Rivas



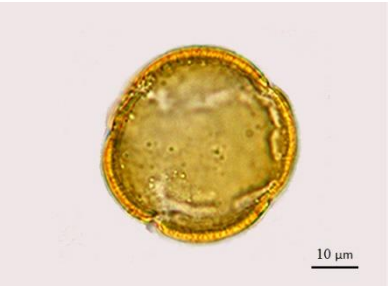
61 *Berberis boliviana*
BERBERIDACEAE



62 *Berberis boliviana* (VP)
BERBERIDACEAE



63 *Berberis boliviana* (VE)
BERBERIDACEAE



64 *Berberis boliviana* (C)
BERBERIDACEAE



65 *Alnus acuminata*
BETULACEAE



66 *Alnus acuminata* (VP)
BETULACEAE



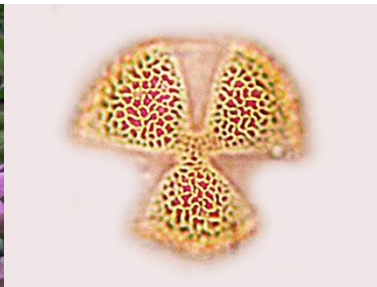
67 *Alnus acuminata* (VE)
BETULACEAE



68 *Alnus acuminata* (C)
BETULACEAE



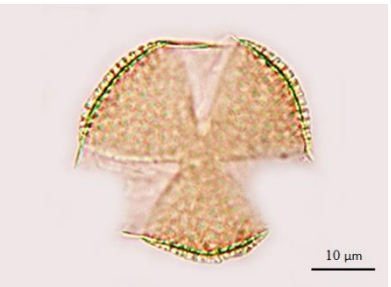
69 *Podranea ricasoliana*
BIGNONIACEAE



70 *Podranea ricasoliana* (VP)
BIGNONIACEAE



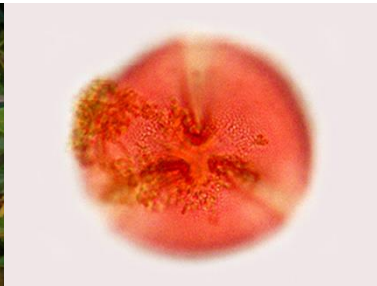
71 *Podranea ricasoliana* (VE)
BIGNONIACEAE



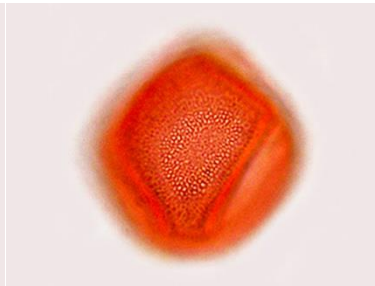
72 *Podranea ricasoliana* (C)
BIGNONIACEAE



73 *Tecoma stans* var. *sambucifolia*
BIGNONIACEAE



74 *Tecoma stans* var. *Sambucifolia* (VP)
BIGNONIACEAE



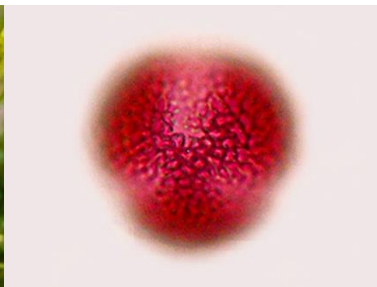
75 *Tecoma stans* var. *Sambucifolia* (VE)
BIGNONIACEAE



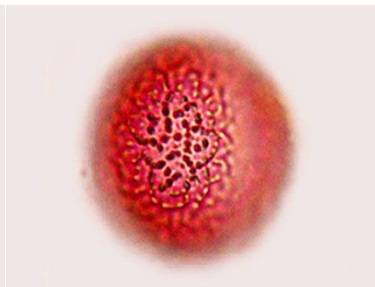
76 *Tecoma stans* var. *Sambucifolia* (C)
BIGNONIACEAE



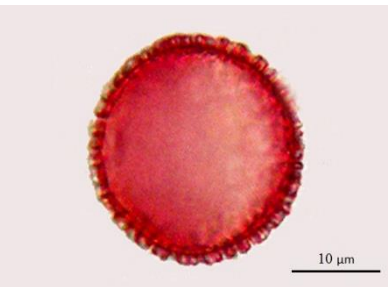
77 *Rapistrum rugosum*
BRASSICACEAE



78 *Rapistrum rugosum* (VP)
BRASSICACEAE



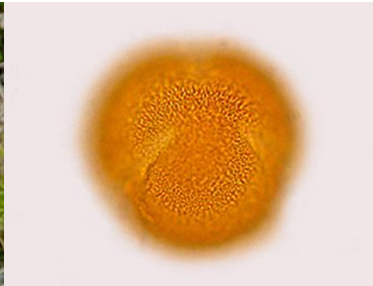
79 *Rapistrum rugosum* (VE)
BRASSICACEAE



80 *Rapistrum rugosum* (C)
BRASSICACEAE



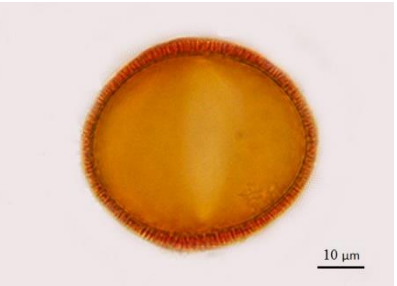
81 *Coryocactus erectus*
CACTACEAE



82 *Coryocactus erectus* (VP)
CACTACEAE



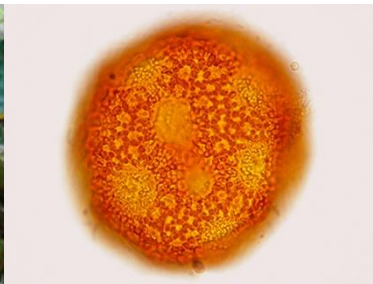
83 *Coryocactus erectus* (VE)
CACTACEAE



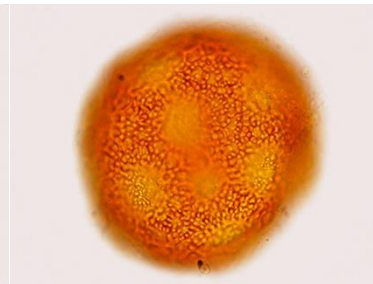
84 *Coryocactus erectus* (C)
CACTACEAE



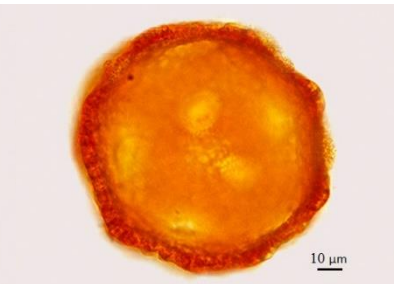
85 *Opuntia ficus-indica*
CACTACEAE



86 *Opuntia ficus-indica*
CACTACEAE



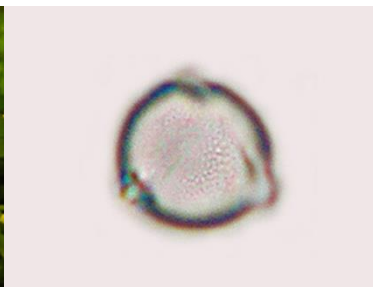
87 *Opuntia ficus-indica*
CACTACEAE



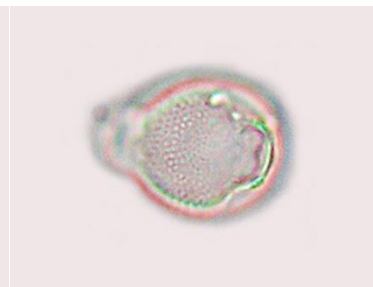
88 *Opuntia ficus-indica* (C)
CACTACEAE



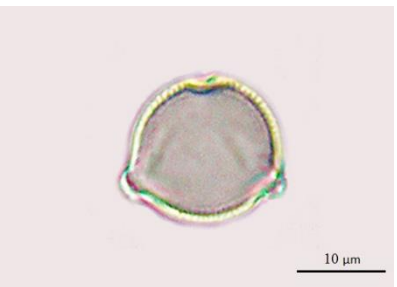
89 *Calceolaria tripartita*
CALCEOLARIACEAE



90 *Calceolaria tripartita* (VP)
CALCEOLARIACEAE



91 *Calceolaria tripartita* (VE)
CALCEOLARIACEAE



92 *Calceolaria tripartita* (C)
CALCEOLARIACEAE



93 *Loniceria japonica*
CAPRIFOLIACEAE



94 *Loniceria japonica* (VP)
CAPRIFOLIACEAE



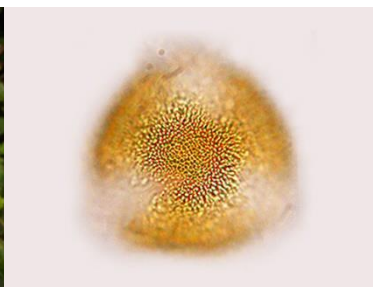
95 *Loniceria japonica* (VE oblicua)
CAPRIFOLIACEAE



96 *Loniceria japonica* (C)
CAPRIFOLIACEAE



97 *Convolvulus crenatifolius*
CONVOLVULACEAE



98 *Convolvulus crenatifolius* (VP)
CONVOLVULACEAE



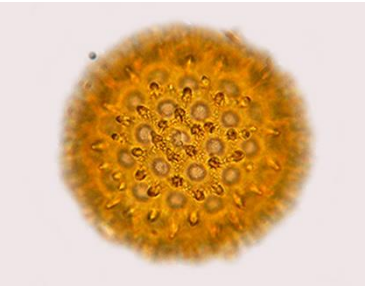
99 *Convolvulus crenatifolius* (VE)
CONVOLVULACEAE



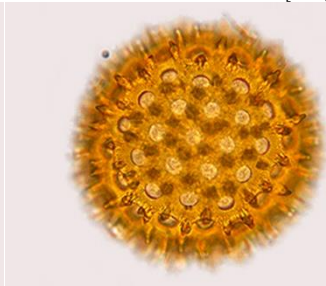
100 *Convolvulus crenatifolius* (C)
CONVOLVULACEAE



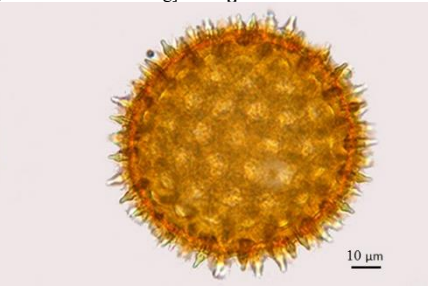
101 *Ipomoea dumetorum*
CONVOLVULACEAE



102 *Ipomoea dumetorum*
CONVOLVULACEAE



103 *Ipomoea dumetorum*
CONVOLVULACEAE



104 *Ipomoea dumetorum* (C)
CONVOLVULACEAE



105 *Cucurbita ficifolia*
CUCURBITACEAE



106 *Cucurbita ficifolia*
CUCURBITACEAE



107 *Cucurbita ficifolia*
CUCURBITACEAE



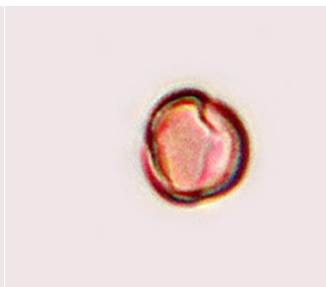
108 *Cucurbita ficifolia* (C)
CUCURBITACEAE



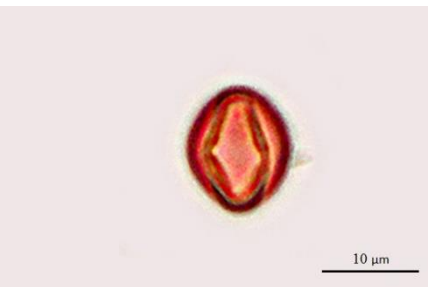
109 *Weinmannia producta*
CUNONIACEAE



110 *Weinmannia producta* (VP)
CUNONIACEAE



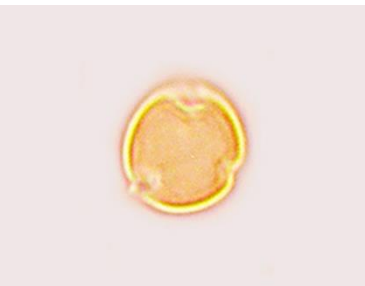
111 *Weinmannia producta* (VE)
CUNONIACEAE



112 *Weinmannia producta* (C)
CUNONIACEAE



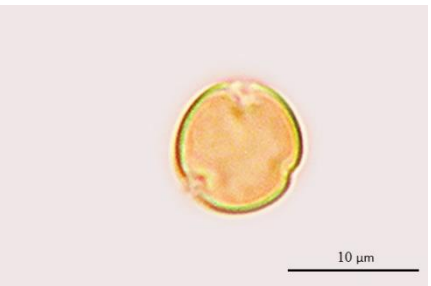
113 *Vallea stipularis*
ELAEOCARPACEAE



114 *Vallea stipularis* (VP)
ELAEOCARPACEAE



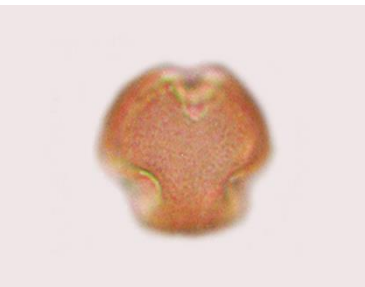
115 *Vallea stipularis* (VE)
ELAEOCARPACEAE



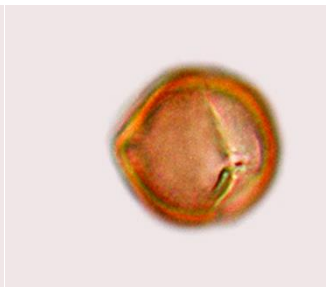
116 *Vallea stipularis* (C)
ELAEOCARPACEAE



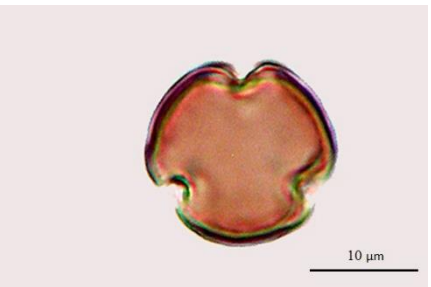
117 *Escallonia resinosa*
ESCALLONIACEAE



118 *Escallonia resinosa* (VP)
ESCALLONIACEAE



119 *Escallonia resinosa* (VE)
ESCALLONIACEAE



120 *Escallonia resinosa* (C)
ESCALLONIACEAE

Cusco, PERÚ

Raúl Yuca-Rivas



121 *Ricinus communis*
EUPHORBIACEAE



122 *Ricinus communis* (VP)
EUPHORBIACEAE



123 *Ricinus communis* (VE)
EUPHORBIACEAE



124 *Ricinus communis* (C)
EUPHORBIACEAE



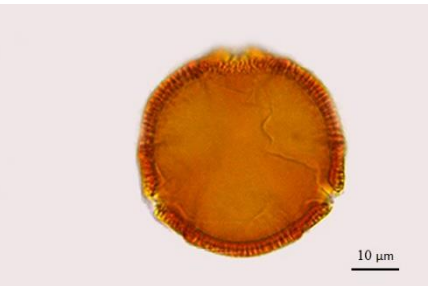
125 *Caesalpinia spinosa*
FABACEAE



126 *Caesalpinia spinosa* (VP)
FABACEAE



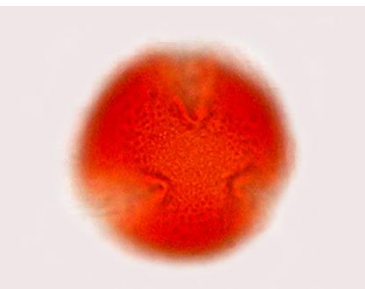
127 *Caesalpinia spinosa* (VE)
FABACEAE



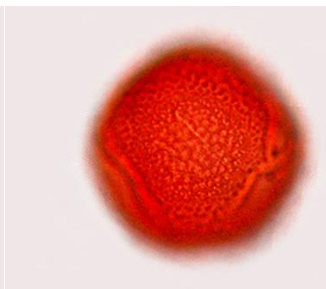
128 *Caesalpinia spinosa* (C)
FABACEAE



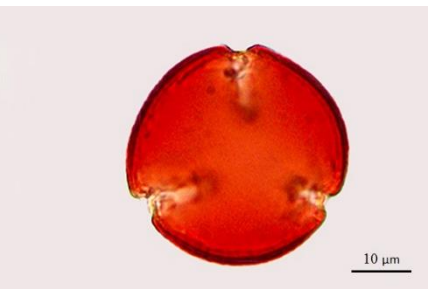
129 *Spartium junceum*
FABACEAE



130 *Spartium junceum* (VP)
FABACEAE



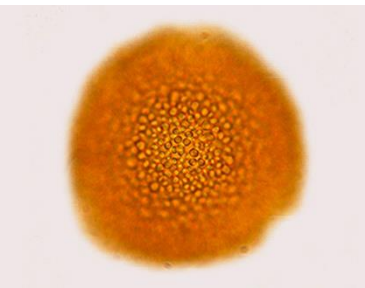
131 *Spartium junceum* (VE)
FABACEAE



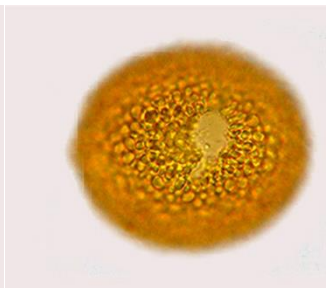
132 *Spartium junceum* (C)
FABACEAE



133 *Geranium herrerae*
GERANIACEAE



134 *Geranium herrerae* (VP)
GERANIACEAE



135 *Geranium herrerae* (VE)
GERANIACEAE



136 *Geranium herrerae* (C)
GERANIACEAE



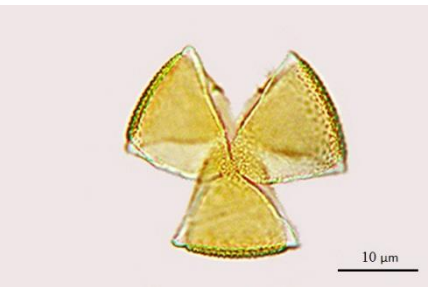
137 *Leonotis nepetifolia*
LAMIACEAE



138 *Leonotis nepetifolia* (VP)
LAMIACEAE



139 *Leonotis nepetifolia* (VE)
LAMIACEAE



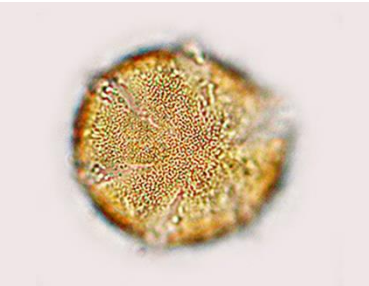
140 *Leonotis nepetifolia* (C)
LAMIACEAE

Cusco, PERÚ

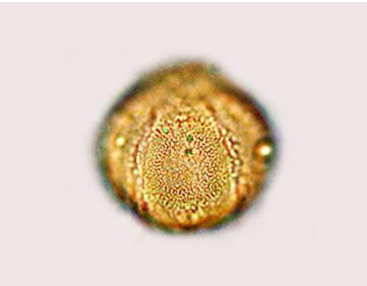
Raúl Yuca-Rivas



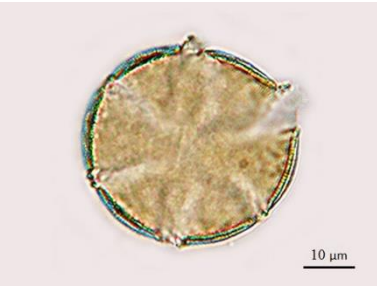
141 *Lepechinia floribunda*
LAMIACEAE



142 *Lepechinia floribunda* (VP)
LAMIACEAE



143 *Lepechinia floribunda* (VE)
LAMIACEAE



144 *Lepechinia floribunda* (C)
LAMIACEAE



145 *Rosmarinus officinalis*
LAMIACEAE



146 *Rosmarinus officinalis* (VP)
LAMIACEAE



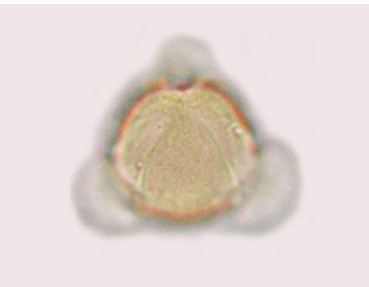
147 *Rosmarinus officinalis* (VE)
LAMIACEAE



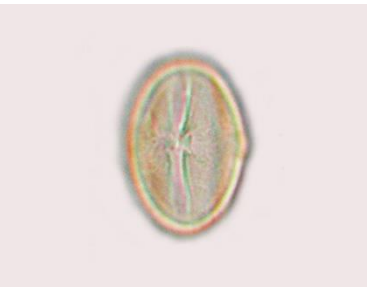
148 *Rosmarinus officinalis* (C)
LAMIACEAE



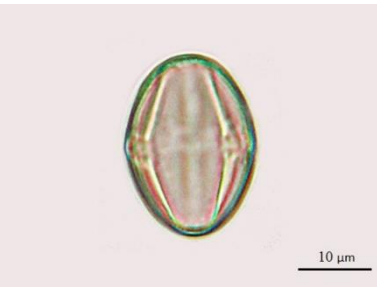
149 *Caiophora* sp.
LOASACEAE



150 *Caiophora* sp. (VP)
LOASACEAE



151 *Caiophora* sp. (VE)
LOASACEAE



152 *Caiophora* sp. (C)
LOASACEAE



153 *Gaiadendron punctatum*
LORANTHACEAE



154 *Gaiadendron punctatum* (VP)
LORANTHACEAE



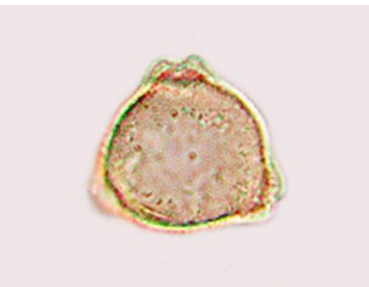
155 *Gaiadendron punctatum* (VE
obliqua)
LORANTHACEAE



156 *Gaiadendron punctatum* (C)
LORANTHACEAE



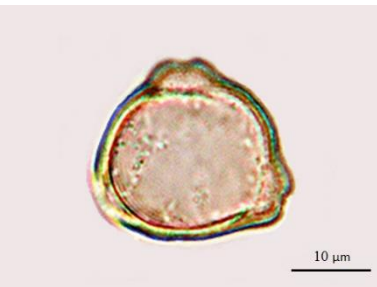
157 *Morella pubescens*
MYRICACEAE



158 *Morella pubescens* (VP)
MYRICACEAE



159 *Morella pubescens* (VE)
MYRICACEAE



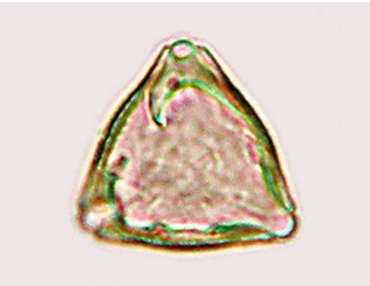
160 *Morella pubescens* (C)
MYRICACEAE

Cusco, PERÚ

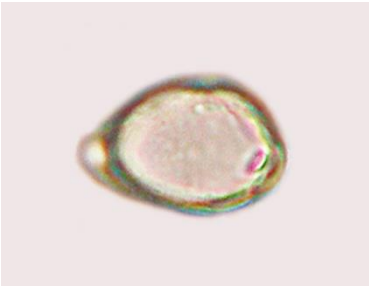
Raúl Yuca-Rivas



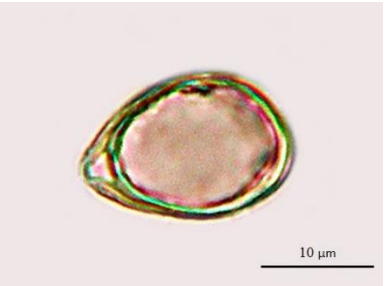
161 *Luma chequen*
MYRTACEAE



162 *Luma chequen* (VP)
MYRTACEAE



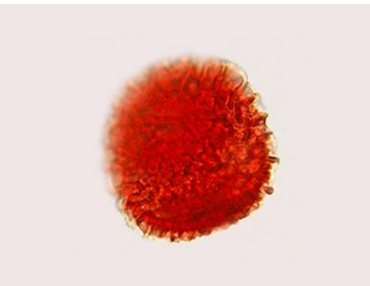
163 *Luma chequen* (VE)
MYRTACEAE



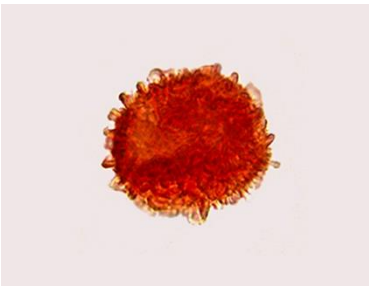
164 *Luma chequen* (C)
MYRTACEAE



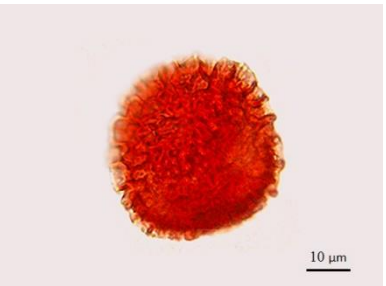
165 *Bougainvillea spectabilis*
NYCTAGINACEAE



166 *Bougainvillea spectabilis*
NYCTAGINACEAE



167 *Bougainvillea spectabilis*
NYCTAGINACEAE



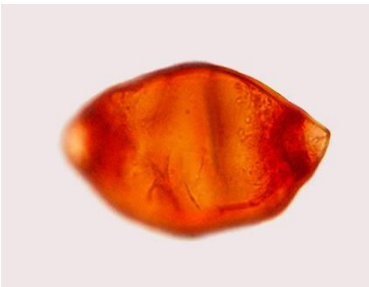
168 *Bougainvillea spectabilis* (C)
NYCTAGINACEAE



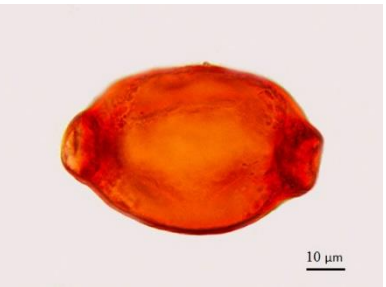
169 *Fuchsia boliviana*
ONAGRACEAE



170 *Fuchsia boliviana*
ONAGRACEAE



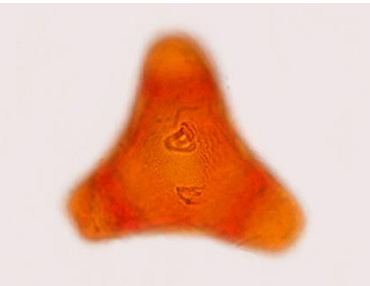
171 *Fuchsia boliviana*
ONAGRACEAE



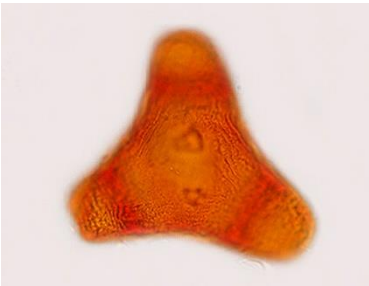
172 *Fuchsia boliviana* (C)
ONAGRACEAE



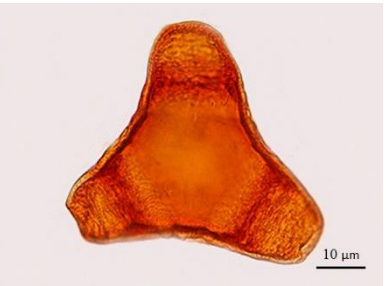
173 *Oenothera rosea*
ONAGRACEAE



174 *Oenothera rosea* (VP)
ONAGRACEAE



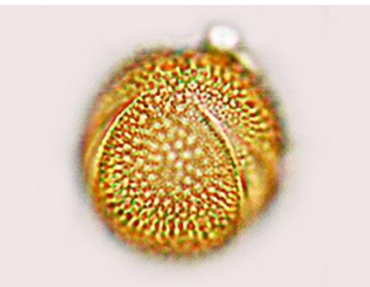
175 *Oenothera rosea* (VP2)
ONAGRACEAE



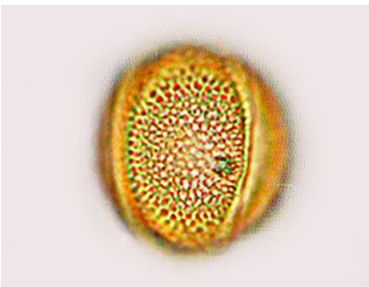
176 *Oenothera rosea* (C)
ONAGRACEAE



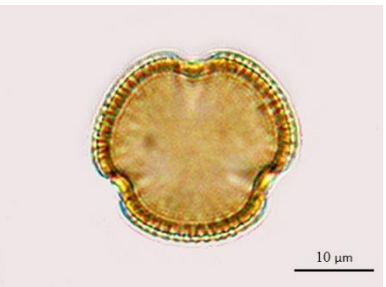
177 *Oxalis peduncularis*
OXALIDACEAE



178 *Oxalis peduncularis* (VP)
OXALIDACEAE



179 *Oxalis peduncularis* (VE)
OXALIDACEAE



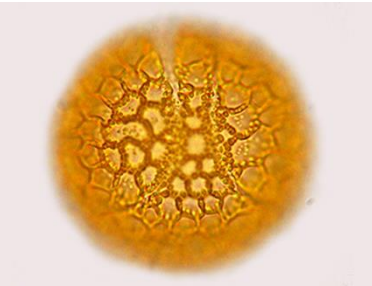
180 *Oxalis peduncularis* (C)
OXALIDACEAE

Cusco, PERÚ

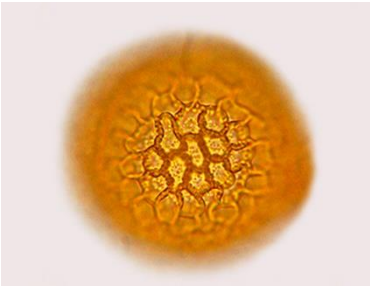
Raúl Yuca-Rivas



181 *Passiflora tripartita*
PASSIFLORACEAE



182 *Passiflora tripartita* (VP)
PASSIFLORACEAE



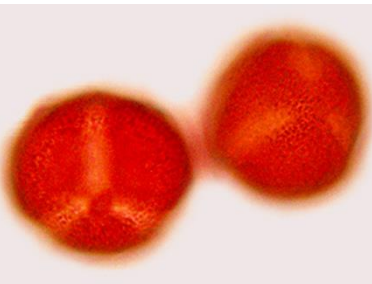
183 *Passiflora tripartita* (VE)
PASSIFLORACEAE



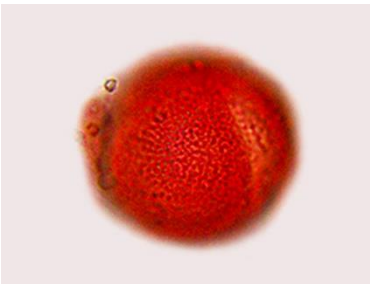
184 *Passiflora tripartita* (C)
PASSIFLORACEAE



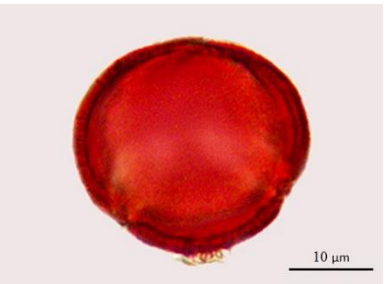
185 *Phytolacca bogotensis*
PHYTOLACCACEAE



186 *Phytolacca bogotensis* (VP)
PHYTOLACCACEAE



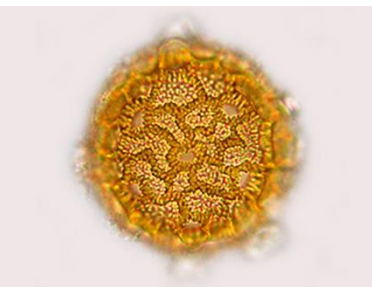
187 *Phytolacca bogotensis* (VE)
PHYTOLACCACEAE



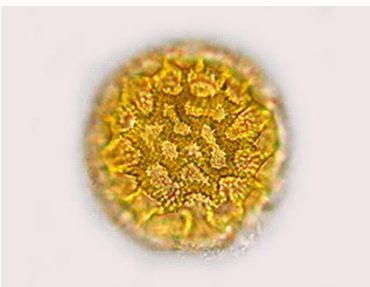
188 *Phytolacca bogotensis* (C)
PHYTOLACCACEAE



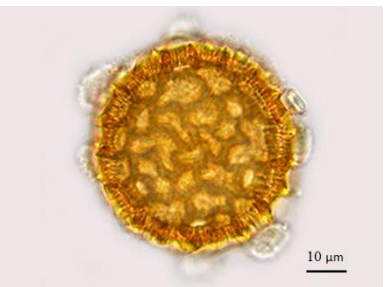
189 *Polygonum hydropiperoides*
POLYGONACEAE



190 *Polygonum hydropiperoides*
POLYGONACEAE



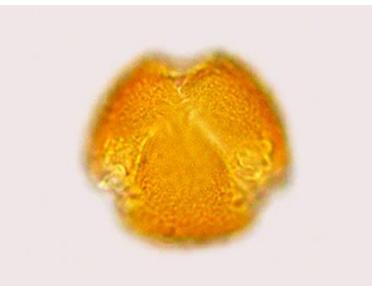
191 *Polygonum hydropiperoides*
POLYGONACEAE



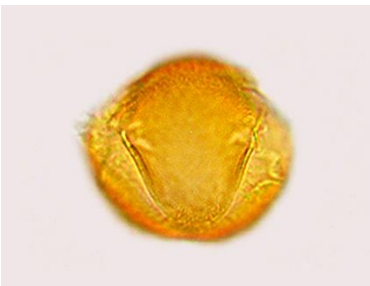
192 *Polygonum hydropiperoides* (C)
POLYGONACEAE



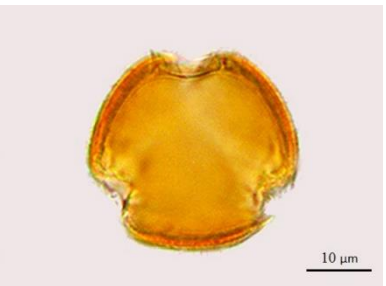
193 *Hesperomeles lanuginosa*
ROSACEAE



194 *Hesperomeles lanuginosa* (VP)
ROSACEAE



195 *Hesperomeles lanuginosa* (VE)
ROSACEAE



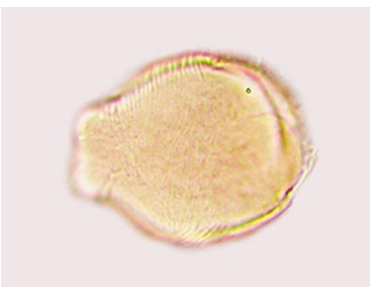
196 *Hesperomeles lanuginosa* (C)
ROSACEAE



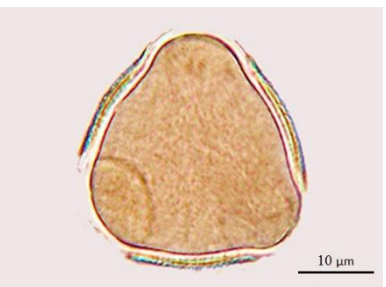
197 *Kageneckia lanceolata*
ROSACEAE



198 *Kageneckia lanceolata* (VP)
ROSACEAE



199 *Kageneckia lanceolata* (VE)
ROSACEAE



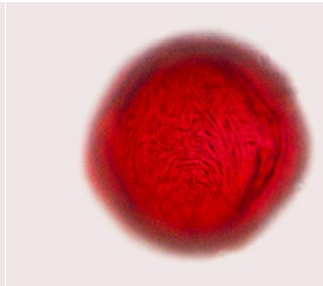
200 *Kageneckia lanceolata* (C)
ROSACEAE



201 *Prunus persica*
ROSACEAE



202 *Prunus persica* (VP)
ROSACEAE



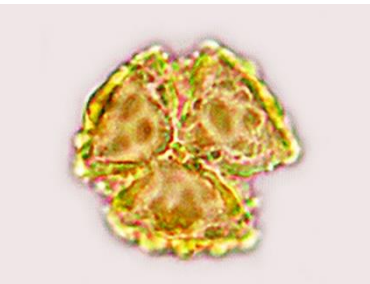
203 *Prunus persica* (VE)
ROSACEAE



204 *Prunus persica* (C)
ROSACEAE



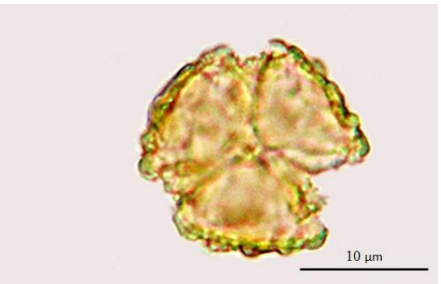
205 *Rubus urticifolius*
ROSACEAE



206 *Rubus urticifolius* (VP)
ROSACEAE



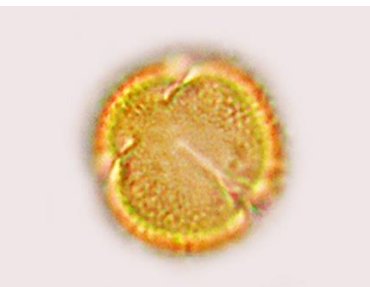
207 *Rubus urticifolius* (VE)
ROSACEAE



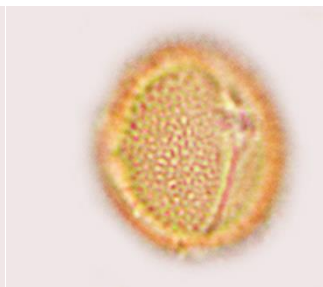
208 *Rubus urticifolius* (C)
ROSACEAE



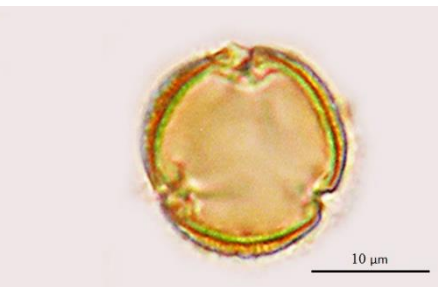
209 *Pineda incana*
SALICACEAE



210 *Pineda incana* (VP)
SALICACEAE



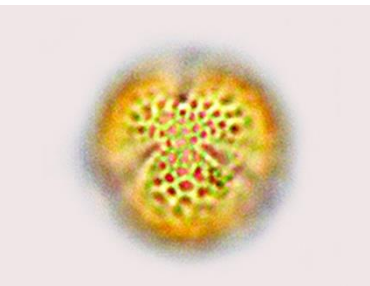
211 *Pineda incana* (VE)
SALICACEAE



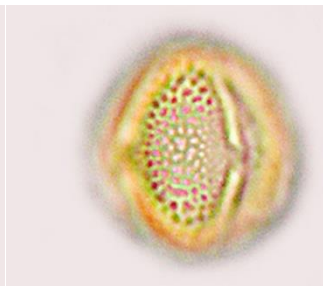
212 *Pineda incana* (C)
SALICACEAE



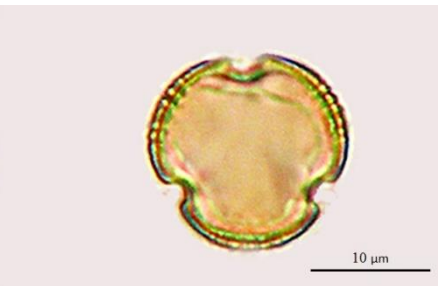
213 *Salix humboldtiana*
SALICACEAE



214 *Salix humboldtiana* (VP)
SALICACEAE



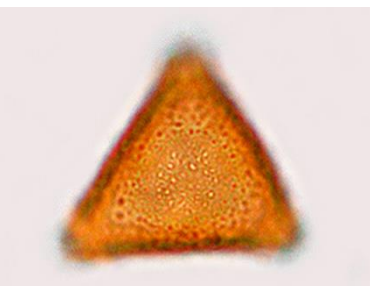
215 *Salix humboldtiana* (VE)
SALICACEAE



216 *Salix humboldtiana* (C)
SALICACEAE



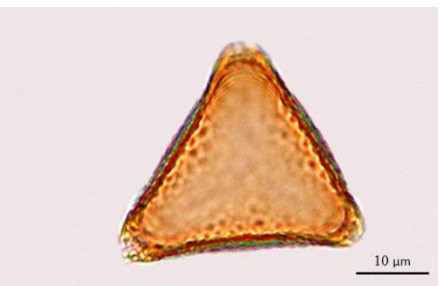
217 *Serjania squarrosa*
SAPINDACEAE



218 *Serjania squarrosa* (VP)
SAPINDACEAE



219 *Serjania squarrosa* (VE)
SAPINDACEAE



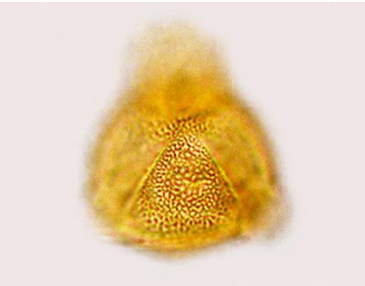
220 *Serjania squarrosa* (C)
SAPINDACEAE

Cusco, PERÚ

Raúl Yuca-Rivas



221 *Verbascum virgatum*
SCROPHULARIACEAE



222 *Verbascum virgatum* (VP)
SCROPHULARIACEAE



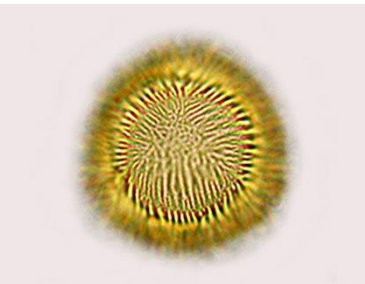
223 *Verbascum virgatum* (VE)
SCROPHULARIACEAE



224 *Verbascum virgatum* (C)
SCROPHULARIACEAE



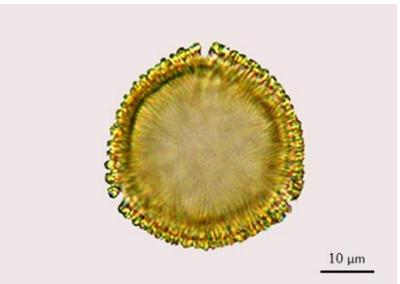
225 *Brugmansia arborea*
SOLANACEAE



226 *Brugmansia arborea* (VP)
SOLANACEAE



227 *Brugmansia arborea* (VE)
SOLANACEAE



228 *Brugmansia arborea* (C)
SOLANACEAE



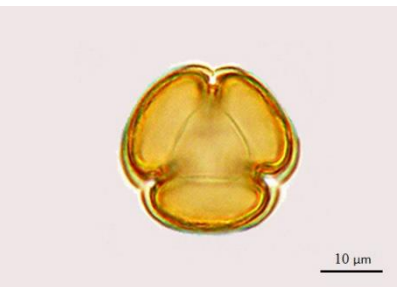
229 *Cestrum conglomeratum*
SOLANACEAE



230 *Cestrum conglomeratum* (VP)
SOLANACEAE



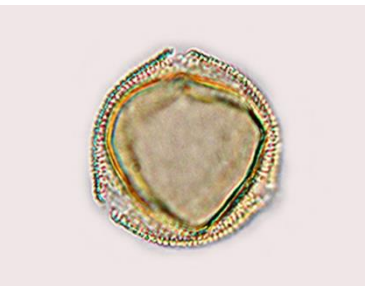
231 *Cestrum conglomeratum* (VE)
SOLANACEAE



232 *Cestrum conglomeratum* (C)
SOLANACEAE



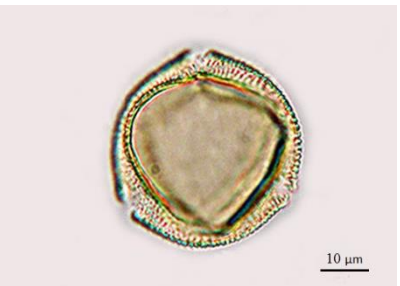
233 *Datura stramonium*
SOLANACEAE



234 *Datura stramonium* (VP)
SOLANACEAE



235 *Datura stramonium* (VE)
SOLANACEAE



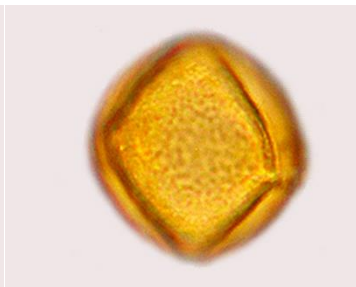
236 *Datura stramonium* (C)
SOLANACEAE



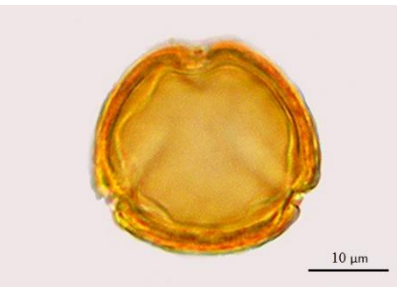
237 *Dunalia obovata*
SOLANACEAE



238 *Dunalia obovata* (VP)
SOLANACEAE



239 *Dunalia obovata* (VE)
SOLANACEAE



240 *Dunalia obovata* (C)
SOLANACEAE

Cusco, PERÚ

Raúl Yuca-Rivas

Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias, Cusco, Perú.

Fotos: Raúl Yuca-Rivas (RYR) Producido por: Raúl Yuca-Rivas © Raúl Yuca-Rivas [rivaszu84@gmail.com]

Eudicotiledóneas: (VP) Vista Polar, (VE) Vista ecuatorial; Monocotiledóneas: (VPx) Vista proximal, (VL) Vista lateral; en ambos: (C) Contorno de la exina.

[fieldguides.fieldmuseum.org] || versión 1 03/2018



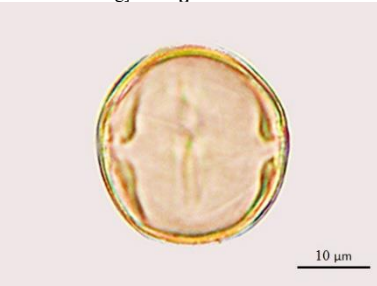
241 *Nicandra physalodes*
SOLANACEAE



242 *Nicandra physalodes* (VP)
SOLANACEAE



243 *Nicandra physalodes* (VE)
SOLANACEAE



244 *Nicandra physalodes* (C)
SOLANACEAE

10 µm



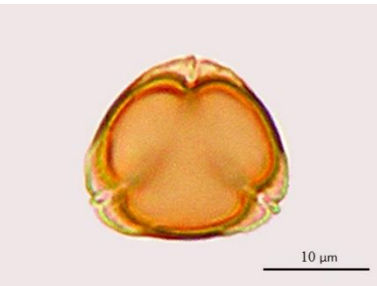
245 *Solanum maturecalvans*
SOLANACEAE



246 *Solanum maturecalvans* (VP)
SOLANACEAE



247 *Solanum maturecalvans* (VE)
SOLANACEAE

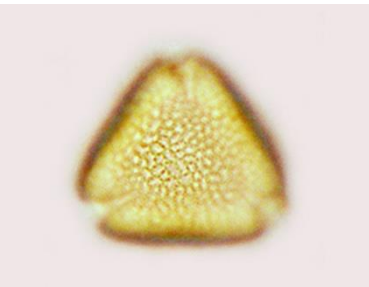


248 *Solanum maturecalvans* (C)
SOLANACEAE

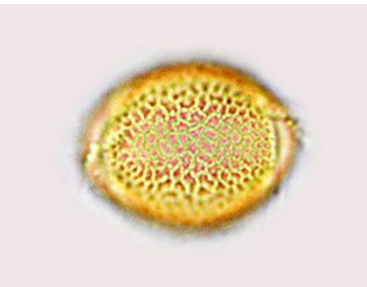
10 µm



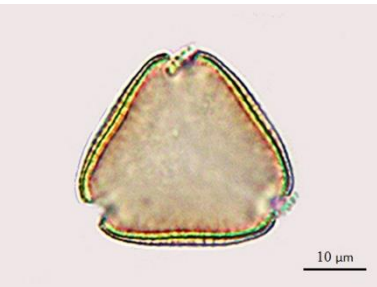
249 *Tropaeolum majus*
TROPAEOLACEAE



250 *Tropaeolum majus* (VP)
TROPAEOLACEAE



251 *Tropaeolum majus* (VE)
TROPAEOLACEAE



252 *Tropaeolum majus* (C)
TROPAEOLACEAE

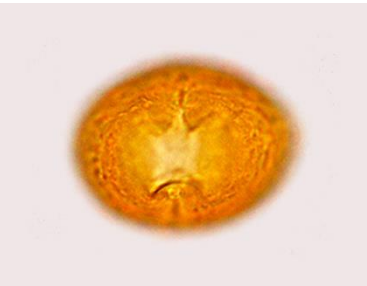
10 µm



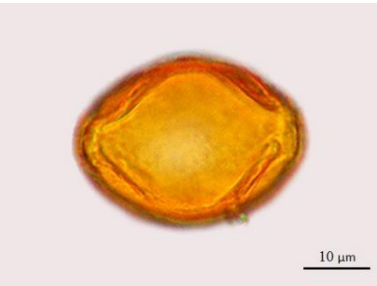
253 *Duranta armata*
VERBENACEAE



254 *Duranta armata* (VP)
VERBENACEAE



255 *Duranta armata* (VE)
VERBENACEAE



256 *Duranta armata* (C)
VERBENACEAE

10 µm



Cultivo de maíz (*Zea mays* L.) alrededor de la localidad de Huarán (distrito de Calca, Cusco), en el Valle Sagrado de los Incas, a 2900 m de altitud.



Trocha entre la localidad de Huarán y la comunidad de Cancha – Cancha (distrito de Calca, Cusco), en el Valle Sagrado de los Incas, a 3600 m de altitud.

REGISTRO FOTOGRÁFICO

Recolección de las muestras de la miel de abeja multifloral ubicado en C.P. Huarán y Miel de eucalipto C.P. Chacán

Fotografía N° 6 Recolección de la miel de Huaran



Fotografía N° 5 Recolecciones de la miel de centro poblado de Chacán



Extracción de las mieles por método centrifugación y embazados en frasco cubiertos con papel aluminio y almacenando en la refrigerado a una Temperatura promedio 8 ° C

Fotografía N° 8 Extracción de las mieles por centrifugación



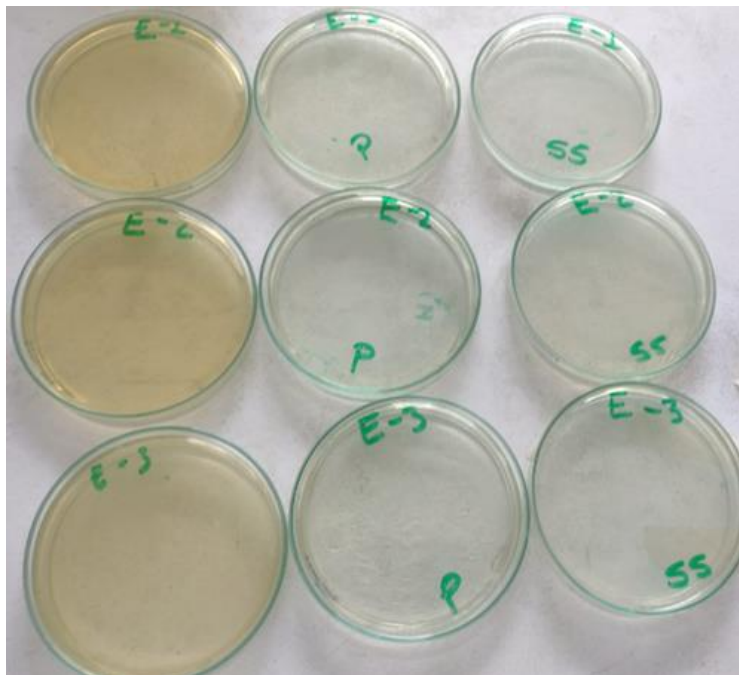
Fotografía N° 7 Las dos muestras de mieles obtenidas



Fotografía N° 9 Preparación de agar para autoclave a 121°C durante 15 minutos



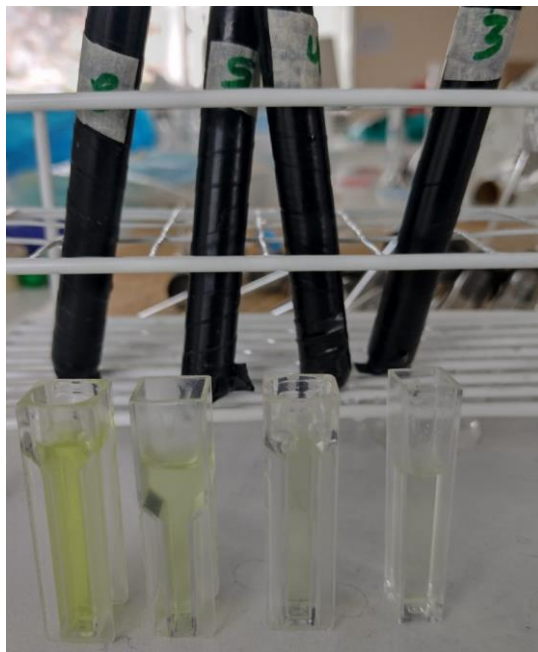
Fotografía N° 10 Recuento de colonias de aerobios mesófilos, sulfitos reductores, y mohos (este último durante 5 días consecutivos)



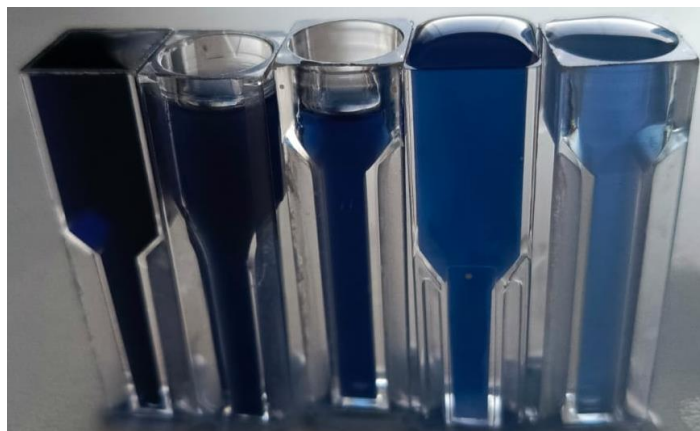
Fotografía N° 12 Preparación de la muestra después de centrifugar, posterior filtrar con papel filtro y proteger de la luz.



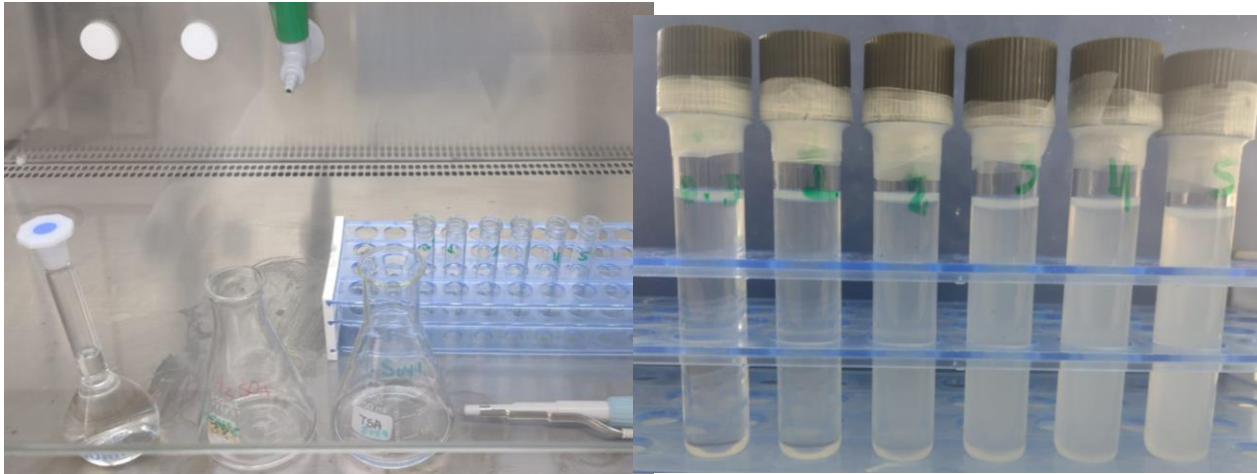
Fotografía N° 11 Preparación de las concentraciones de ácido gálico estandarizados para medir las absorbancias



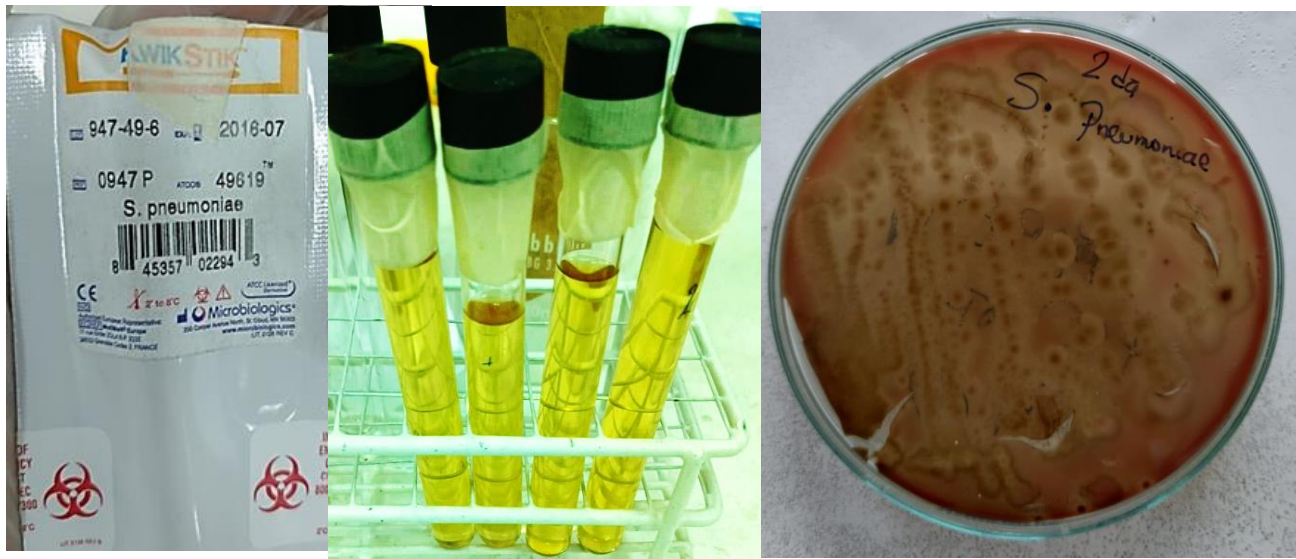
Fotografía N° 13 Preparación de la curva de estándar de quercetina para medir las absorbancias en espectrofotómetro UV



Fotografía N° 14 Preparación de la escala de Mc Farland con **los reactivos** 0.05 ml de cloruro de bario dihidrato al 1.175% ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y 9.95 ml de ácido sulfúrico al 1% (H_2SO_4). Para obtener una turbidez de 0.5



Fotografía N° 15 Activación de cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 en caldo BHI (infusión cerebro corazón) se incubó a 36° C por 24 horas luego se siembra en agar sangre al 5%



Fotografía N° 17 Peso de la miel directamente en los tubos rotulados y limpios, esterilizados con una jeringa con filtro



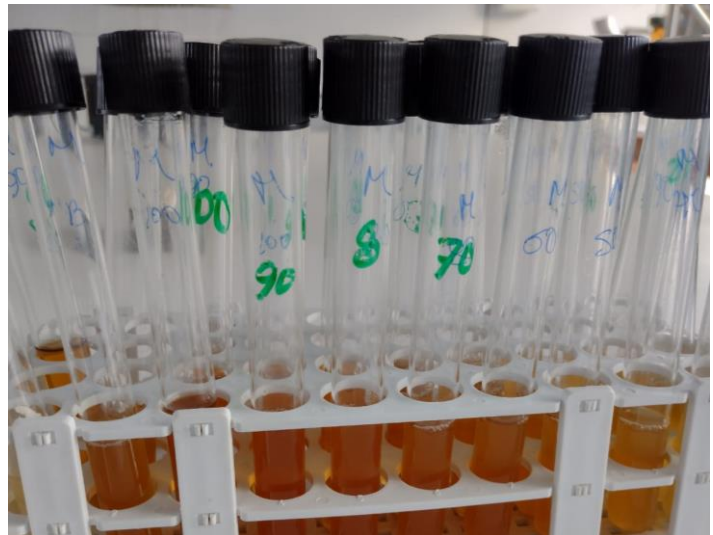
Fotografía N° 16 Las muestras, se diluyeron con caldo Mueller Hinton seriado al lado del mechero Bunsen



Fotografía N° 19 Mezcla la miel multifloral con el caldo Mueller Hinton (MH) y agita con un vortex durante 5 minutos



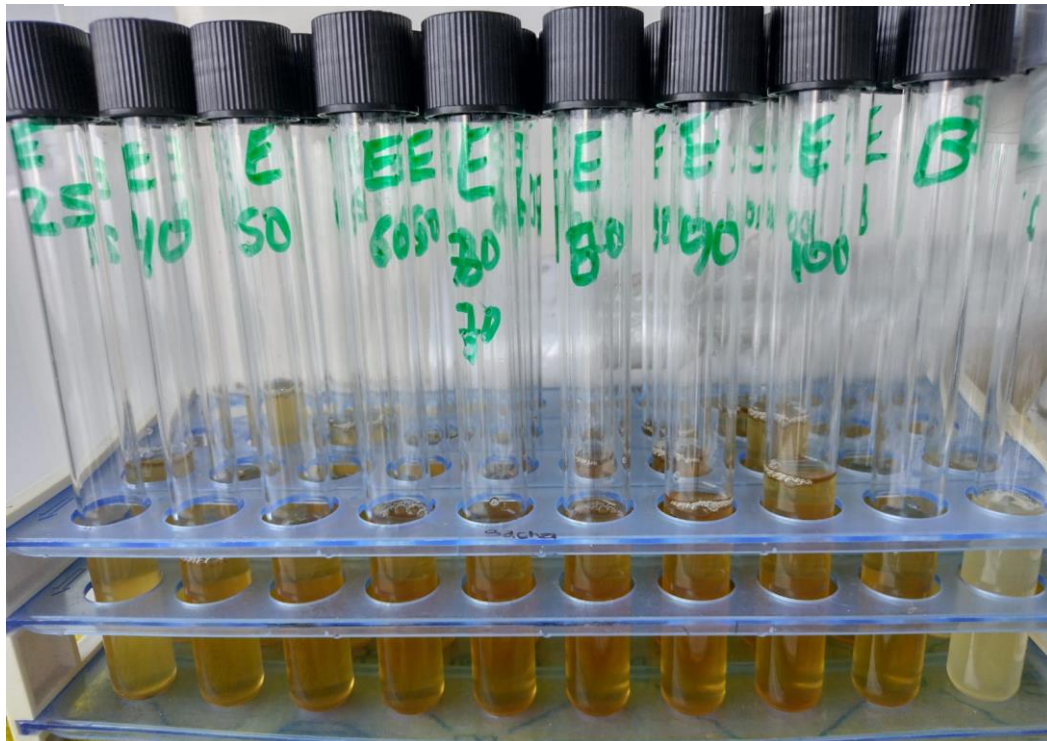
Fotografía N° 18 Dilución de la miel multifloral con caldo Mueller Hinton (MH) y la bacteria *Streptococcus pneumoniae*



Fotografía N° 20 Incubación anaerobia de los tubos preparados por 24 horas a una temperatura de 37° C



Fotografía N° 21 Corresponden a las muestras de eucalipto que, después de 24 horas de incubación, se procederá a medir la turbidez



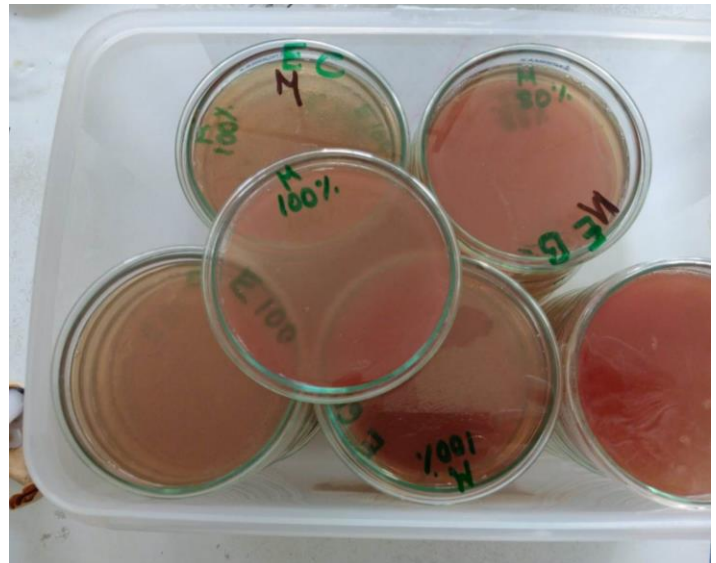
Fotografía N° 22 Corresponden a la lectura de absorbancias en espectrofotómetro UV.



Fotografía N° 24 Plaqueo de agar sangre con 5% de sangre de caballo



Fotografía N° 23 Las diluciones de caldo se sembraron en agar sangre al 5% y se incubaron de manera anaerobia por 24 a 48 horas



Fotografía N° 25 Determinación del (CMB) concentración mínima bactericida de la muestra de miel con concentraciones del 25% al 50% y del 60% al 100%

